

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



Bc. Petra Kočí

Kompostování materiálů obsahující mikropolutanty

Composting of materials contaminated by micropollutants

Diplomová práce

Vedoucí práce: Prof. RNDr. Tomáš Cajthaml PhD.

Praha, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 02.01.2020

Podpis 

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu práce Prof. RNDr. Tomáši Cajthamlovi PhD. za odborné vedení, cenné rady a připomínky ke zpracování diplomové práce. Ráda bych poděkovala i Ing. Aleně Filipové za pomoc při zpracování analýzy PLFA, PharmDr. Kláře Michalíkové, Ph.D. za pomoc při zpracování analýzy mikropolutantů a Mgr. Tereze Čermákové za pomoc při měření estrogenní aktivity. Dále patří poděkování i ostatním členům Laboratoře environmentální biotechnologie za jejich pomoc a cenné rady. V neposlední řadě patří poděkování mé rodině, která mě podporovala během psaní této práce.

OBSAH

1.	ÚVOD	7
2.	SEZNAM ZKRATEK	8
3.	TEORETICKÝ ÚVOD	11
3.1.	Mikropolutanty	11
3.1.1.	Významné skupiny mikropolutantů v kalu a jejich vliv na životní prostředí	12
3.2.	Kaly a kalové hospodářství	17
3.3.	Kompostování	19
3.3.1.	Kompostování jako bioremediační metoda	19
4.	CÍLE PRÁCE a hypotézy	25
5.	MATERIÁLY A METODY	26
5.1.	Standardy	26
5.2.	Použitý materiál, chemikálie a mikroorganismy	27
5.3.	Přístrojové vybavení	27
5.4.	Degradace mikropolutantů kompostováním	29
5.4.1.	Příprava experimentu	29
5.4.2.	Průběh experimentu	30
5.5.	Fyzikálně chemické metody	32
5.5.1.	Extrakce pevných matic vysokotlakou extrakcí rozpouštědlem (ASE) ..	32
5.5.2.	Detekce polutantů kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí (LC-MS/MS)	33
5.5.3.	Detekce polutantů kapalinovou chromatografií s UV detekcí (LC-UV) ..	34
5.5.4.	Analýza fosfolipidických mastných kyselin	35
5.5.5.	Analýza nebiogenních kovů	38
5.6.	Biologické metody	38
5.6.1.	Měření estrogení aktivity β -galaktozidázovým testem	38

5.7.	Statistické vyhodnocení výsledků	40
6.	VÝSLEDKY A DISKUZE	41
6.1.	Degradace mikropolutantů během kompostování	41
6.1.1.	Kompost S	41
6.1.2.	Kompost F	47
6.2.	Analýza PLFA	50
6.3.	Měření estrogenní aktivity β -galaktozidázovým testem	52
7.	ZÁVĚR	55
8.	POUŽITÁ LITERATURA	56

ABSTRAKT

Mikropolutanty jsou látky antropogenního původu, nacházející se v životním prostředí v řádových koncentracích $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ – $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Mohou být čistě syntetické, nebo přírodního původu. Do životního prostředí se dostávají díky různým lidským činnostem. I přes svou nízkou koncentraci v životním prostředí představují reálné riziko pro organismy kvůli svým specifickým biologickým účinkům. Kal z čistíren odpadních vod se díky svému vysokému obsahu živin používá v zemědělství. Prostřednictvím jeho použití se mikropolutanty v něm obsažené mohou dostat do životního prostředí. Kompostování je levná bioremediační metoda, používaná už od 80. let minulého století. Tato diplomová práce se zabývá kompostováním kalů z čistíren odpadních vod, kontaminovaných mikropolutanty. Vysoká míra degradace byla pozorována u uměle kontaminovaného kalu, především u ED (až 100 %). U kalu z průmyslové výroby léčiv byla pozorována degradace jen u některých látek, některé látky se nedegradovaly vůbec.

Klíčová slova: kompostování, mikropolutanty, bioremediace, endokrynní disruptory, čistírenský kal

ABSTRACT

Micropollutants are compounds of anthropogenic origin, detected at concentrations of $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ – $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ in the environment. Micropollutants are synthetic or natural compounds. Micropollutants are released into the environment due to various human activities. Despite low concentrations in the environment, they represent a real threat to organisms, because of their specific biological effects. Sewage sludge is used in agriculture due to its high nutritious content. Via using sludge in agriculture, contained micropollutants can be released to environment. Composting is a cheap bioremediation method, used from 80's of the last century. This diploma thesis is focused on composting of sewage sludge, contaminated with micropollutants. High degradation rate was observed in artificially contaminated sludge, mainly with endocrine disruptors (up to 100 %). Lower degradation rate was observed in sewage sludge from a pharmaceutical plant, some of the compounds were not degraded at all.

Keywords: composting, micropollutants, bioremediation, endocrine disruptors, sewage sludge

1. ÚVOD

Mikropolutanty jsou látky, které jsou v životním prostředí detekovány v nízkých koncentracích ($\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ – $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$). Do životního prostředí se dostávají díky různým lidským činnostem. Mikropolutanty mohou být syntetické jako například chlorované sloučeniny nebo přírodního původu jako například některá antibiotika. I když jsou v životním prostředí přítomny v nízkých koncentracích, jsou potencionálním nebezpečím kvůli svým specifickým biologickým účinkům na organismy. Mikropolutanty jsou stále častěji detekovány ve vodním prostředí, odpadní vodě a kalech díky rozvoji analytických metod. V odpadních vodách se můžeme často setkat s farmaky a jejich metabolity, endokrinními disruptory a produkty osobní hygieny. Tyto látky se díky své povaze dobře sorbují na kal (Stamm a spol., 2016, Olofsson a spol., 2012, Fenner a spol., 2005, Fijalkowski, 2019, Gogoi a spol., 2018).

Kal je díky velkému obsahu organické hmoty, fosforu, dusíku a jiných živin používán v zemědělství (Harrison a spol., 2006). Vyhláška č. 437/2016 Sb., o podmínkách požití upravených kalů na zemědělské půdě stanovuje limity pro těžké kovy, polychlorované bifenily, polyaromatické uhlovodíky a halogenované organické sloučeniny, pro ostatní skupiny látek neexistují žádné limity (vyhláška č. 437/2016 Sb., 2016).

Kompostování je proces probíhající za přístupu vzduchu, na kterém se podílejí mikroorganismy. Ty přetváří organickou hmotu na oxid uhličitý, vodu, teplo a kompost (Kästner a spol., 2016). Kompostování je levná bioremediační metoda, která se používá už od 80. let minulého století (Antilazar-Ladislao a spol., 2006).

Tato diplomová práce je zaměřena na studium kompostování kalů z čistíren odpadních vod vzhledem k možným úpravám kalů touto metodou pro snížení antropogenní zátěže mikropolutanty při následných aplikacích kalů na zemědělskou půdu. Byly provedeny dva experimenty s různými vzorky kalů. Jeden kal byl uměle kontaminován směsí mikropolutantů, druhý kal byl reálný vzorek pocházející z čistírny odpadních vod.

2. SEZNAM ZKRATEK

AMI	amitriptylin
AOX	halogenované organické sloučeniny
AZI	azitromycin
BaP	benzo(a)pyren
BbF	benzo(b)fluoranthén
BPA	bisfenol A
BPF	bisfenol F
BPS	bisfenol S
BUT	butamirát
CLA	klarytromycin
CPRG	chlorfenol red- β -D-galaktopyranosidáza
CPTX	2-chloroprothioxanthén-9-on
CPX	chlorprothixén
ČOV	čistírna odpadních vod
ČR	Česká republika
DBP	dibutylftalát
deka-BDE	dekabromdifenyl ether
DEP	diethylftalát
DIK	diklofenak
DMSO	dimethylsulfoxid
DSL	dosulepin
DSLC	dosulepin karbinol
E1	estron
E2	estradiol
E3	estriol
ED	endokrinní disruptory (z angl. endokryne disruptors)
EE2	17-alfa-ethynylestradiol

EU	Evropská unie
Flt	fluoranthen
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
CHX	chlorhexidin
IBU	ibuprofen
IPB	2-isopropenylbenzofenol
KAR	karbamazepin
KET	ketoprofen
KOF	kofein
LC-MS/MS	kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí
LC-UV	kapalinová chromatografie s UV detekcí
MELC	melitracen karbinol
MET	metoprolol
MRMs	multiple-reaction monitoring transitions
NAP	naproxen
NP	nonylfenol
NP1EO	nonylfenol monoethoxylát
PAU	polycyklické aromatické uhlovodíky
PCB	polychlorované bifenyly
PCDD/Fs	polychlorované dioxiny a dibenzofurany
PCPs	produkty osobní hygieny (z angl. Personal care products)
PLFA	fosfolipidické mastné kyseliny

PNEC	predikovaná koncentrace, která nebude mít žádný efekt
POPs	perzistentní organické polutanty
PVC	polyvinylchlorid
SAC	sacharin
SPY	sulfapyridin
THP	thiepinon
TRC	triclosan

3. TEORETICKÝ ÚVOD

3.1. Mikropolutanty

Mikropolutanty jsou látky antropogenního původu, které se vyskytují v životním prostředí v nízkých koncentracích ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ až $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Může se jednat o čistě syntetické látky, jako jsou například chlorované uhlovodíky, nebo látky přírodního původu jako některá antibiotika nebo estrogeny. Mikropolutanty se mohou do životního prostředí dostávat prostřednictvím zemědělství, domácností, dopravy anebo průmyslu. Jejich nebezpečí často tkví v tom, že tyto látky mívají velmi specifický biologický účinek (Stamm a spol., 2016). Nejvíce literatury se zabývá problematikou mikropolutantů ve vodním prostředí, odpadních vodách a čistírenských kalech. Často se pak můžeme setkat s pojmem nově se vyskytující polutanty (z angl. *emerging pollutants*). Jde o látky, které jsou díky rozvoji analytických metod často detekovány v čistírenském kalu a odpadních vodách v řádových koncentracích $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ až $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Tyto látky představují reálné riziko pro lidské zdraví a životní prostředí. Jedná se především o farmaka, produkty osobní hygieny (PCPs z angl. *personal care products*) a endokrinní disruptory (ED) (Fijalkowski, 2019, Gogoi a spol., 2018). I když je prokázán negativní vliv těchto látek na životní prostředí, jen některé země (například Švédsko) zavedli program systematického odběru kalu a sledování těchto látek (Olofsson a spol., 2012). Aby se získaly alespoň nějaké údaje o mikropolutantech ve vodním prostředí, byl na základě prováděcího rozhodnutí Evropské komise 2015/495 a směrnice 2008/105/ES o normách environmentální kvality v oblasti vodní politiky, stanoven seznam 10 sledovaných látek nebo skupin látek. Tyto látky mohou představovat významné riziko pro vodní prostředí, ale nejsou pro ně dostatečné údaje z monitorování. Z monitoringu by měly vzejít údaje o koncentracích těchto látek ve vodním prostředí, které se pak použijí při hodnocení, jestli tyto látky zařadit na seznam prioritních látek. Na seznam byl zařazen 17- α -ethynylestradiol (EE2), estradiol (E2), estron (E1), diklofenak, 2,6-di-terc-butyl-4-methylfenol, 2-ethylhexyl-4-methoxycinnamát 5, makrolidová antibiotika, methiokarb, neonikotinoidy, oxadiazon a triallát (prováděcí rozhodnutí EK 2015/495, 2015, směrnice EP 2008/1005/ES, 2008).

Problematika mikropolutantů v odpadních vodách a kalech je důležitá, protože velké množství chemikálií, na kterých je dnešní společnost závislá, často končí v odpadní vodě. Nejrozumnější skupiny látek jako jsou pesticidy, léčiva, detergenty, ftaláty, hormony,

rozpouštědla a mnoho dalších skupin látek jsou už několik desetiletí detekovány ve vodách nejen v industriálních zónách, ale i v odlehlejších oblastech, což značí jejich schopnost dálkového transportu (Fenner a spol., 2005). Technická zařízení jako čistírny odpadních vod (ČOV) slouží jako částečná bariéra, proti vniku polutantů do životního prostředí, bohužel se zaměřují především na odstranění makropolutantů (Schwarzenbach a spol., 2006). Během jednoho z kroků čištění odpadní vody vzniká jako odpadní produkt kal. Na jeho organickou složku se mohou sorbovat látky s lipofilní povahou, obsažené v odpadní vodě (Huang a spol., 2019). Sorpci na kal ovlivňuje kromě povahy samotné látky i způsob čištění vody na ČOV, vlastnosti odpadní vody a kalu jako jsou například pH, koeficient K_{ow} nebo obsah organické hmoty (Verlicchi a spol., 2015, Hörsing a spol., 2011). Jelikož se kal kvůli velkému obsahu živin používá v zemědělství, mikropolutanty se tak prostřednictvím jeho použití mohou dostávat do životního prostředí (Harrison a spol., 2006). Česká legislativa se při použití kalu v zemědělství zabývá jen omezením vnosu toxických kovů, patogenů a polychlorovaných bifenyli (PCB), polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU) a halogenovaných organických sloučenin (AOX), pro ostatní skupiny polutantů neexistují žádné limity (vyhláška č. 437/2016 Sb., 2016).

3.1.1. Významné skupiny mikropolutantů v kalu a jejich vliv na životní prostředí

Velkou skupinou mikropolutantů jsou léčiva. Léčiva mají specifický biologický účinek na lidi a zvířata a jejich významná část je vylučována močí a exkrementy v původní nebo metabolizované formě do odpadní vody, popřípadě do hnoje. Léčiva se do odpadní vody mohou dostávat i prostřednictvím továren na jejich výrobu nebo špatným zacházením s léčivy v domácnostech, kdy je nespotřebovaná část splachována nebo vylita do odpadu. Kvůli jejich neustálému přísunu do životního prostředí jsou zde stále detekovány (Hernando a spol., 2006, Caldwell, 2015). Léčiva přítomná v životním prostředí mají nejen negativní vliv na přítomné organismy, ale mohou stát i za vznikem bakterií rezistentních vůči antibiotikům (Huang a spol., 2011, Verlicchi a spol., 2015). V literatuře, zabývající se léčivy v odpadních vodách a kalech, jsou nejčastěji uváděny skupiny léčiv jako jsou analgetika, protizánětlivé látky, antibiotika a psychoaktivní látky (Roig a spol., 2015, Voulvoulis a spol., 2015).

Značná část léčiv, vstupujících do odpadních vod, jsou léčiva užívaná proti zánětu, horečce a bolesti. Spousta z těchto léků je volně dostupná a jejich spotřeba je obrovská.

Ve vodním prostředí pak mohou mít neblahý vliv na přítomné vodní organismy (Fent a spol., 2006, Ziylan a spol., 2011). Například diklofenak může mít i v nízkých koncentracích vliv na poškození DNA, ledvin, žaber, ovlivňuje imunitní systém nebo inhibuje některé transferázy u vodních organismů (Schmidt a spol., 2011, Hoeger a spol., 2005). Pro tuto skupinu léčiv byly různými autory naměřeny hodnoty v sušině kalu například pro ibuprofen (IBU) v rozmezí $6 \cdot 10^{-6}$ - $4,0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, pro naproxen (NAP) $1 \cdot 10^{-6}$ - $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, pro ketoprofen (KET) $58,4 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, pro diklofenak (DIK) 0 - $330 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (Harrison a spol., 2006, Sun a spol., 2016, Subedi a spol., 2014, Peysson a spol., 2013, Kumirska a spol., 2015, Jelic a spol., 2011, Ivanová a spol., 2018).

Antibiotika v poslední době vzbuzují obavy především ze vzniku rezistence u mikroorganismů. I malé koncentrace antibiotik v životním prostředí mohou způsobovat u mikroorganismů selekci genů zodpovědných za resistenci vůči antibiotikům (Jørgensen a spol., 2000). V kalu byly naměřeny hodnoty pro sulfapyridin (SPY) $0,8$ - $33 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, pro azitromycin (AZI) $1,3$ - $336 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, pro klarytromycin (CLA) $0,3$ - $25 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, sulfaxomethazol $2,9 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, tetracyklin $49,8$ - $466 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (Göbel a spol., 2005, Jelic a spol., 2011, Ivanová a spol., 2018, Sun a spol., 2016). Psychoaktivní látky jsou celosvětově hojně předepisovány a také se často vyskytují v životním prostředí, kde je hlavním zdrojem ČOV. V životním prostředí pak mohou způsobovat změny chování vodních živočichů a mohou se bioakumulovat (Schultz a spol., 2008, Brodin a spol., 2013, Calisto a spol., 2009). Různými autory byly naměřeny hodnoty v kalu pro karbamazepin (KAR) v rozmezí $1,80$ - $86 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ a amitriptylin (AMI) 29 - $273 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (Sun a spol., 2016, Ivanová a spol., 2018, Peysson a spol., 2013, Jelic a spol., 2011).

PCPs se používají pro zlepšení každodenního života lidí. Jedná se o různé krémy, šampóny, sprchové gely, zubní pasty, ústní vody, deodoranty a další podobné přípravky. Při jejich používání se dostávají do odpadní vody. Látky v nich obsažené se pak mohou dostávat do životního prostředí prostřednictvím nedostatečně vyčištěné odpadní vody, případně použitím kalu v zemědělství (Boxall a spol., 2012, Kinney a spol., 2006). PCPs byly detekovány ve vodách na všech kontinentech (Montes-Grajales a spol., 2017).

Triclosan (TRC) je jednou z nejpoužívanějších antimikrobiálních látek v produktech osobní hygieny. Je více toxický nežli jiné podobně využívané antimikrobiální látky (Mcavoy a spol., 2002, Brausch a spol., 2011, Adolfsson-Erici a spol., 2002). TRC byl detekován celosvětově v povrchových vodách, do kterých se dostává skrze ČOV

(Dougherty a spol., 2010, Kasprzyk-Hordern a spol., 2008, Kim a spol. 2009). V životním prostředí pak může mít negativní účinky na přítomné organismy nebo se v nich bioakumulovat (Orvos a spol., 2002, Sherburne a spol., 2016). Jeho míra odstranění z odpadní vody na ČOV může při správných podmínkách dosáhnout až 96 %. Opět záleží na sorpci na kal a biodegradaci pomocí aktivačního kalu (Bester a spol., 2003). V kalu byly jeho koncentrace naměřeny v rozsahu 0,107-46 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Mcavoy a spol., 2002, Verlicchi a spol., 2015, Zhu a spol., 2019, Zheng a spol., 2020).

Další skupinou mikropolutantů jsou ED. Podle definice Evropské komise se jedná o exogenní látky nebo směsi látek, které ovlivňují funkce endokrinního systému a v návaznosti způsobují nežádoucí účinky na daný organismus, jeho potomstvo nebo subpopulace. ED mohou být přírodního původu jako například estrogény, fytoestrogény a podobně, nebo antropogenního původu, například léčiva, pesticidy, alkyfenoly a další (Evropská komise, 2019). Mechanismy účinků ED jsou různé. Látky mohou napodobovat přirozený hormon interakcí s receptory, blokovat efekt hormonu nebo přímo či nepřímo ovlivňovat syntézu hormonů. Významnými ED v odpadních vodách a kalech jsou E1, E2, EE2, bisfenol A (BPA), ftaláty a alkyfenoly (Jones a spol., 2018).

Estrogény se kromě antikoncepce používají při léčbě symptomů provázející menopauzu, při procesu změny pohlaví a při léčbě rakoviny prostaty a prsu. Přírodní hormony se v těle rychle metabolizují, a proto jsou při léčbě podávány ve vysokých koncentracích (Kuster a spol., 2004, Aris a spol., 2014). Prostřednictvím moči a výkalů se pak dostávají do odpadních vod. Jejich míra odstranění z odpadní vody se během procesu čištění může výrazně lišit (13,5-100 %), kdy záleží na technologiích čištění, teplotě a sorpci na kal (Ben a spol., 2017, Racz a spol., 2010, Auriol a spol., 2006). Koncentrace estrogenů v kalu se pohybuje v řádu desítek $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Například pro E1 byly různými autory naměřeny hodnoty v rozmezí 4-43 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, pro E2 méně než 1 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ až 49 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ a pro EE2 méně než 1 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ až 17 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Ternes a spol., 2002, Muller a spol., 2010, Braga a spol., 2005).

Bisfenol A je látka vyrábějící se celosvětově ve velkém množství. Nachází se v běžných spotřebitelských výrobcích, jako jsou lepidla, plastové jídelní nádoby, CD a DVD nosiče, jako aditivum v termopapíru a v zubních výplních. Požívá se také při výrobě epoxy pryskyřic, ty se pak používají například v krycích vrstvách uvnitř konzerv nebo k potahům vodovodních trubek. V Evropské unii (EU) bude od roku 2020 zakázáno

používat BPA v termopapíru, navíc je už od roku 2011 v EU zakázán v kojeneckých lahvích. Francie dokonce zakázala BPA ve všech potravinářských obalech, nádobách a pomůckách (Staples a spol., 1998, PubChem database, 2019, European chemical agency, 2019). Problémem mohou být i nejčastěji používané náhrady za BPA jako je bisfenol S (BPS) a bisfenol F (BPF). Tyto látky mohou také vykazovat estrogenní aktivitu, a proto nejsou vhodné jako bezpečná náhrada BPA (Liao a spol., 2012, Peyre a spol., 2014, Héliers-Toussaint a spol., 2014, Kinch a spol., 2015). Bisfenoly se také nachází v odpadní vodě (v řádech desítek až stovek $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) a jejich míra odstranění z odpadní vody opět závisí na teplotě, použité technologii čištění a na sorpci na kal (Sun a spol., 2018, Guerra a spol., 2015). V kalu se pak mohou koncentrace bisfenolů hodně lišit, pro BPA byly naměřeny hodnoty v rozmezí 4 až 1363 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ a pro BPF 0,2 až 245 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Fromme a spol., 2002, Guerra a spol., 2015, Yu a spol., 2015, Zhu a spol., 2019).

Ftaláty (estery kyseliny ftalové) se používají při výrobě polyvinylchloridu (PVC), jako změkčovače plastů, v obalech, kosmetice, v produktech osobní hygieny a v repelentech (Staples a spol., 1997). Do životního prostředí se dostávají prostřednictvím průmyslu nebo uvolňováním z finálních produktů, protože nejsou chemicky vázány v polymerních strukturách plastů (Fromme a spol., 2002). Z odpadní vody se ftaláty odstraňují především sorpcí na kal a biodegradací během procesu čištění. Účinnost odstranění ftalátů z odpadní vody může být při správných podmínkách až 94 % (Martinen a spol., 2003). V kalu byly naměřeny jejich hodnoty v rozmezí až 18-490 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pro diethylhexylftalát, který je jedním z nejpoužívanějších ftalátů, pro dibutylftalát byly naměřeny hodnoty 0,6-4,6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, pro diethylftalát 1,1-2,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a pro dimethylftalát 1,4-2,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Fromme a spol., 2002, Cifci a spol., 2013, Aparicio a spol., 2009, Martinen a spol., 2003).

Alkylfenoly jako například nonylfenol ethoxylát se používá jako povrchově aktivní látka v detergentech, barvách, kosmetice a textiliích (Aparicio a spol., 2009). Nonylfenol ethoxylát se během čistících procesů na ČOV transformuje na více perzistentní a toxický nonylfenol (NP) a nonylfenol monoethoxylát (NP1EO) (Núñez a spol., 2007). Nonylfenol není pouze endokrinní disruptor, ale jeho přítomnost v půdě může zpomalovat růst rostlin a snižovat obsah chlorofylu v listech (Kim a spol., 2019). V EU je použití nonylfenol ethoxylátu výrazně omezeno (zakázán v detergentech, kosmetických výrobcích, při výrobě textilních výrobků), nicméně zejména v asijských zemích je nadále používán (Ministerstvo průmyslu a obchodu, 2016, European chemical agency, 2019, Gao a spol., 2017). Nonylfenol se díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem dobře sorbuje na kal,

kde byly jeho koncentrace naměřeny různými autory v rozmezí 1,2-358,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (González a spol., 2010, Aparicio a spol., 2009, Gao a spol., 2017).

Jak již bylo zmíněno výše, upravený kal ž čistíren vod se používá v zemědělství a mikropolutanty v něm obsažené mohou kontaminovat podzemní vody, mít toxický efekt na půdní mikroorganismy, mohou se bioakumulovat v rostlinách a v půdních živočiších (Carbonell a spol., 2009).

Verlicchi a kol. (2015) se snažili ohodnotit riziko pro životní prostředí způsobené některými skupinami léčiv a produktů osobní hygieny přítomných v kalu pomocí predikované koncentrace, která nebude mít žádný efekt (PNEC). Kvůli nedostatku dat týkajících se akutních a chronických účinků na suchozemské organismy, je PNEC v kalu hodnocena pomocí dostupných dat o PNEC ve vodním prostředí a adsorbčního koeficientu K_d . Tento přístup se nazývá postup rovnovážného rozdělení (z angl. equilibrium partition approach) a doporučuje jej Evropská komise (Evropská komise, 2003). Dále autoři posuzovali hodnocení environmentálního rizika podle dostupných dat o maximálních a minimálních koncentracích ve vyhnílem kalu. Podle toho přístupem ohodnotili antibiotika sulfamethoxazol, erythromycin, roxithromycin, azithromycin, a ofloxacin jako látky představující největší riziko v životním prostředí, následované hormony (E2, E1 a EE2), analgetiky a protizánětlivými léčivy (paracetamol, ibuprofen, naproxen a kyselina salicylová) a betablokátozem propranololem (Verlicchi a spol., 2015). Jiní autoři uvedli jako největší riziko pro životní prostředí antibiotika (sulfamethoxazol, sulfadiazin, ofloxacin, erythromycin a azithromycin), hormony (EE2 a E2), ibuprofen a triclosan (Martín a spol., 2012, Zhu a spol., 2014, Yan a spol., 2014).

V 24 let trvajícím experimentu, prováděném na polích ve Španělsku, se autoři zabývali zvyšujícím se výskytem genů, zodpovědných za resistenci proti antibiotikům u mikroorganismů, po aplikaci čistírenského kalu. Na polích, na kterých byl aplikován kal, byl u mikroorganismů pozorován a potvrzen nárůst výskytu těchto genů. Autoři také poukázali na korelace mezi výskytem těchto genů a koncentracemi Zn a Cu v půdě (Urra a kol., 2019).

Endokrinní disrupce u volně žijících druhů ryb je často spojována s estrogeny uvolňujících se z čistíren odpadních vod. Některé druhy ryb mají velmi podobné estrogenní receptory jako lidé a při jejich vystavení estrogenním látkám tak dochází k narušení hormonálního systému (Dang a spol., 2010, Tyler a spol., 2008). U ryb je pak

pozorován především problém s reprodukcí například kvůli různým malformacím gonád, jejich opožděným růstem, intersexem atd. (Jobling a spol., 2006, Woodling a spol., 2006, Vajda a spol., 2008). Bylo publikováno, že přítomnost EE2 ve vodním prostředí v jednotkách $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ může upravovat aktivitu různých fyziologických procesů u vodních organismů, jako například aktivitu acetylcholinesterázy a jiných neurotransmiterů a detoxifikačních systémů (Souza a spol., 2013).

Kal může být i zajímavou matricí, na které se dají studovat trendy toku mikropolutantů v čase. Díky Stockholmské úmluvě vznikly regulace pro persistentní organické polutanty (POPs) jako jsou PCB, dibenzo-p-dioxiny a dibenzofurany (PCDD/Fs) (United Nations Environment Programme, 2001). Dnes tedy můžeme pozorovat úbytek těchto látek v kalu. Autoři studie ze Švédska pozorovali během 7 let úbytek většiny mikropolutantů v kalu, což zdůvodňují přijetím lepších regulačních opatření. U výskytu některých látek však pozorovali i nárůst. Například u dekabromdifenyl etheru (deka-BDE), který se používá jako zháseč hoření. Nárůst je nejspíše způsoben postupným nahrazováním otkabromdifenyl etheru a pentabromdifenyl etheru právě zmíněným deka-BDE (Olofsson a spol., 2012).

3.2. Kaly a kalové hospodářství

Kaly vznikají v čistírnách odpadních vod. ČOV se mohou rozdělit na několik typů podle použití technologického procesu. V ČR jsou nejčastější mechanicko-biologické čistírny odpadních vod (Labtech, 2017). V těchto čistírnách se přivádí odpadní voda odpadní stokou, která se nejdříve musí mechanicky přefiltrat. Pod mechanické procesy čištění spadá sběr štěrku, hrubé čištění přes česle a sedimentace. Sedimentace probíhá v usazovacích nádržích, vzniklý sediment se nazývá surový kal. Kal je odváděn do vyhnívacích nádrží, které musí být vyhřívány. Ve vyhnívacích nádržích je anaerobní prostředí a vzniká zde bioplyn, který se využívá v kotelnách nebo kogeneračních jednotkách. Biologické čištění probíhá v aktivačních nádržích. Na čištění odpadní vody se podílejí aerobní bakterie, které využijí organickou hmotu jako potravu a přemění je na CO_2 a jiné vedlejší produkty. Kolonie těchto bakterií se nazývají aktivační kal. Po biologickém přefiltru putuje voda do dosazovacích nádrží, kde se oddělí aktivační kal od vyčištěné vody (Environmental Protection Agency, 2004).

Kal je heterogenní směs bohatá na živiny jako je fosfor, dusík, draslík a sodík. Může se využít jako zdroj energie (anaerobní vyhnívání, spalování), upravený jako hnojivo a

pro zlepšení půdních vlastností, nebo dokonce jako zdroj cenných prvků (recyklace fosforu) (Fijalkowski a spol., 2017). Evropská směrnice o kalech (The Sewage Sludge Directive 86/278/EEC) byla zavedena, aby podpořila použití kalu v zemědělství a zároveň regulovala negativní dopady jeho použití na půdu, vegetaci, živočichy a lidi. Směrnice říká, že kaly musí být upraveny, aby se snížila rizika spojená s jejich použitím v zemědělství (kal musí být stabilizovaný a hygienicky nezávadný). Také je potřeba předcházet nežádoucím vlivům na životní prostředí omezením vnosu těžkých kovů (Směrnice rady 86/278/EHS, 1986). Z environmentálního hlediska je vhodné kal používat v zemědělství kvůli navracení minerálů a organické hmoty a zlepšení půdní struktury. Díky obohacení půdy o organickou hmotu z kalu se zvýší schopnost půdy zadržovat vodu a snižuje se její eroze. V dlouhodobém výhledu je použití kalu důležité i z důvodu vyčerpání globálních zásob fosforu a potřebou zavést udržitelné strategie doplňování živin v zemědělství (Poulsen a spol., 2010, Fijalkowski a spol., 2017).

V ČR se aplikace kalů na zemědělskou půdu se řídí vyhláškou č. 437/2016 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě. Kaly se před použitím na zemědělskou půdu musí hygienizovat a analyzovat, kdy se sledují těžké kovy, PCB, PAU, AOX a koliformní bakterie. Dále se musí vypracovat program použití kalu na zemědělskou půdu, aby se snížily negativní dopady jeho použití (vyhláška č. 437/2016 Sb., 2016). V roce 2018 bylo v ČR vyprodukováno 202 358 tun sušiny kalu. K přímé aplikaci na půdu bylo použito 40 % vyprodukovaného kalu, kompostováno bylo 32 %, zbylých 28 % bylo zneškodněno jiným způsobem (Český statistický úřad, 2019). Skládání kalu je kvůli jeho vlastnostem v ČR zakázáno. Na skládku může být uložen jen tehdy, když splňuje parametr AT4 biologické stability (vyhláška č. 294/2005 Sb., 2005, vyhláška č. 341/2008 Sb., 2008, Ministerstvo životního prostředí, 2019). Spalování kalu je další možností nakládání s kalem. Do budoucna bude nejspíše nevýhodné kvůli přísnějším limitům na emise, navíc už dnes se vyplatí jen ve velkých provozech, kvůli nákladům na jeho odvodnění a nízké výhřevnosti. (Kacprzak a spol., 2017, Furness a spol., 2000). Do budoucna by mohlo mít spalování kalu potenciál z hlediska recyklace fosforu ze vzniklého popela (Donatello a spol., 2013). Mezi další způsoby nakládání s kalem patří spalování například s komunálním odpadem, pyrolýza, zplyňování a další alternativní metody (Ciešlik a spol., 2015).

3.3. Kompostování

Kompostování je aerobní proces, na kterém se podílejí mikroorganismy. Mikroorganismy v kompostu využívají organickou hmotu jako zdroj energie, generují teplo, vytváří kompost, a způsobují úbytek hmoty až o 50 %. Hmotu je uvolňována hlavně jako CO₂ a voda (Kästner a spol., 2016). Kompostování se dá rozdělit do 3 fází podle teplotního profilu. V každé fázi jsou aktivní jiné skupiny mikroorganismů. Kompostování je zahájeno termofilní fází. Teploty během prvních dnů rychle rostou, díky velké aktivitě termofilních mikroorganismů a mohou dosáhnout až 70 °C. Tato změna teploty má za následek pokles diverzity mikroorganismů. Následující je mezofilní fáze, kdy se dostupnost organického uhlíku stává limitujícím faktorem a produkce tepla mikroorganismy klesá. V této fázi se stávají opět aktivní mezofilní bakterie, houby a aktinomycety. Když se kompost ochladí na teploty podobné okolí nastává maturační (zrací) fáze, kdy se stává kompost stabilní (Fogarty a spol., 1991, Lee, 2016).

3.3.1. Kompostování jako bioremediační metoda

Kompostování se používá za účelem zisku kompostu, který se využívá jako cenné hnojivo v zemědělství (Kelessidis a spol., 2012). Na kompostování však můžeme nahlížet i jako na bioremediační metodu, která se používá už od 80. let minulého století (Antilazar-Ladislao a spol., 2006). Dříve se zkoumalo především jeho použití pro bioremediaci půd kontaminovaných polycyklickými aromatickými uhlovodíky (PAU), výbušninami, aromatickými uhlovodíky a minerálními oleji (Antilazar-Ladislao a spol., 2005). Je mnoho způsobů, jak kompostování provést. Od velkých hromad, kde není potřeba upravovat teplotu, až po malé reaktory v kontrolovaných podmínkách (Stemple a spol., 2001). Výhodou použití kompostování jako bioremediační metody jsou především nízké náklady na jejich použití (Kästner a spol., 2016).

V literatuře lze nalézt několik článků zabývajících se kompostováním materiálů obsahujících mikropolutanty, většinou se jedná o kaly z čištění odpadních vod (ČOV) nebo hnůj z chovu zvířat. Butkovskyi a kol. (2016) provedli experiment, ve kterém probíhalo kompostování za kontrolovaných podmínek v 5 litrových reaktorech po dobu 92 dní. Jako materiál použili uměle kontaminovaný kal farmaky, produkty osobní hygieny (PCPs) a estronem, jako substrát použili dřevní štěpku o velikosti částic <3 cm. Po 92 dnech byl pozorován úbytek o 87,8 % pro karbamazepin, 99,8 % pro metoprolol,

až 97,8 % pro galaxolid nebo 99,9 % pro estron, estradiol, diklofenak a ibuprofen. U triclosanu byla pozorována transformace na methyltriclosan (Butkovskiy a spol., 2016). Podobných výsledků pro diklofenak a triclosan dosáhli E. Haiba a spol. ve svém experimentu. Během kompostování kalu smíchaného s dřevními pilinami se 98 % přítomného diklofenaku rozložilo, zatímco metabolity triclosanu zůstávali přítomné v kompostu i po 30 dnech (Haiba a spol., 2017).

V jiném článku se zaměřili na degradaci jiných látek (prekurzory pro výrobu plastů, detergenty a zhášeče hoření) obsažených v kalu z ČOV. Výsledky ukázaly různou škálu degradace od 33 % pro trifenylofosfát, přes 65 % pro tanalid, po 90 % pro methylthiobenzothiazol (Poulsen a spol., 2010). Další autoři prokázali degradaci během kompostování čistírenského kalu u těchto látek: 50-56 % u lineárních alkylbenzenů, 20-50 % u nonylfenolu ethoxylátu, až 85 % u di(2-ethylhexyl) ftalátu, 50 % u azitromycinu, 10 % u citalopramu, 59,5 % u triclosanu a úplnou degradaci fluoxetinu (Patureau a spol., 2008, Cheng a spol., 2008, Iranzo a spol., 2018, Zheng a spol., 2020).

V kompostu se nachází mnoho druhů mikroorganismů, jejichž komunity se během kompostování vyvíjí, a to má významný vliv na účinnost degradace. Guodi Zheng a kol. zdůrazňují ve svém článku korelaci mezi vysokým výskytem bakterií rodu *Bacillus* a degradací nonylfenolu, který je považován za endokrinní disruptor. V experimentu byl kompost různě provzdušňován, přičemž vyšší míra provzdušnění podpořila aktivitu *Bacilla* a zároveň degradaci nonylfenolu, která dosáhla až 68,3 % (Zheng a spol., 2018). Maríá Iranzo a kol. se ve svém experimentu pokusili určit mikroorganismy zodpovědné za degradaci některých farmak. Kompostování probíhalo za kontrolovaných podmínek v 8 l reaktorech po dobu 32 dní, jako substrát byla použita rýžová sláma. Pro izolaci mikroorganismů použili vzorky z první mezofilní fáze. Analýza mikroorganismů byla provedena pomocí kultivace. Výsledky ukázaly, že ibuprofen může jako zdroj uhlíku používat *Alternaria alternata*, azitromycin *Alcaligenes faecalis* subsp. *faecalis*, *Bacillus cereus*, *Brevundimonas naejangsanensis* a *Klebsiella oxytoca*. Jako zdroj dusíku mohou využívat ibesartan mikroorganismy jako *Aspergillus terreus*, *Klebsiella michiganensis*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaneae*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *Klebsiella quasipneumoniae* subsp. *similipneumoniae* a *Papiliotrema terrestris* (Iranzo a spol., 2018).

Během kompostování může dojít i ke zdánlivému nárůstu koncentrací mikropolutantů. V experimentu, kde se sledovala degradace antibiotik přítomných v kalu během kompostování, došlo ke zvýšení koncentrace fluorochinolonů, což autoři vysvětlují tím, že během kompostování dochází k úbytku organické hmoty a koncentrace rekalcitrantních látek se tak může zdánlivě zvýšit. Výsledky proto přepočítali podle úbytku hmoty, který zjistili podle obsahu popelovin v kompostu. Ukázalo se, že došlo k degradaci ampicilinu, klaritromycinu, lincomycinu, tetracyklinu a trimethoprimu v rozmezí od 36 do 46 %. Antibiotika ze skupiny fluorochinolonů se nedegradovaly, což mohlo být způsobeno tím, že v experimentu pracovali s nízkými koncentracemi (Khadra a spol., 2019). V jiném experimentu, který se zabýval degradací fluorochinolonů v kalu během kompostování autoři dosáhli úbytku až o 95,4 % u narfoxacinu a ofloxacinu. Je ale nutné říci, že v experimentu byly mnohem vyšší vstupní hodnoty koncentrací nežli v předchozím experimentu (Zhang a spol., 2019). Amine Ezzariai a spol. ve svém článku upozorňují na výskyt antibiotik v kalu, které pak mohou způsobovat rezistenci bakterií vůči antibiotikům. Zabývají se osudem antibiotik během kompostování a zahrnují kromě kalu i kompostování hnoje z chovu zvířat, který také může obsahovat významné koncentrace antibiotik. Kompostování posuzují jako vhodnou metodu pro degradaci antibiotik, avšak dodávají, že je potřeba více výzkumu v této oblasti, protože většina experimentů probíhala v laboratorních podmínkách s velkými koncentracemi antibiotik (Ezzariai a spol., 2018).

Někteří autoři se zabývají i porovnáním degradace během kompostování a anaerobního vyhnívání čistírenského kalu. Krok anaerobního vyhnívání je většinou prováděn na ČOV. V experimentu porovnávali degradaci fluoranthenu (Flt), benzo(b)fluoranthenu (BbF), benzo(a)pyrenu (BaP) a nonylfenolu (NP). Během anaerobního vyhnívání došlo k degradaci 22 % Flt, 6 % BbF, 18 % BaP a u NP nebyla pozorována žádná degradace. Naopak během kompostování se degradovalo 52 % NP, 34 % Flt, 31 % BbF a 38 % BaP. Tyto látky se tedy rozkládají mnohem lépe při aerobním procesu kompostování nežli během anaerobního vyhnívání (Aemig a spol., 2019).

V Itálii se zabývali anaerobním vyhníváním a následným kompostováním odpadu vzniklého při výrobě daptomycinu. Odpad byl fermentovaná biomasa, která obsahuje residua daptomycinu z výroby. Po anaerobním vyhnívání byl digestát smíchán se substrátem a kompostován v 300 l provzdušňované nádobě po dobu 90 dní. Vstupní koncentrace byla $2,4 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ a už po 30 dnech byl daptomycin pod limitem detekce použité

metody ($<0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Výsledný kompost navíc odpovídal kritériím italských zákonů pro použití jako hnojiva (Cucina a spol., 2017).

Dalším materiálem obsahujícím mikropolutanty je hnůj z chovu zvířat. Mohou se v něm nacházet především antibiotika, popřípadě hormony. V experimentu zaměřeném na kompostování hnoje z chovu brojlerů, byl hnůj uměle kontaminován 10 látkami (doxycyklin, enrofloxacin, erythromycin, flumequin, norfloxacin, sulfadiazin, tilmicosin, trimethoprim, tylosin a progesteron) v koncentraci $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Kompostování probíhalo v 12 l nádobách, provzdušnění bylo zajištěno každodenním promícháním kompostu. Po 40 dnech se všech 10 látek degradovalo s účinností $>99 \%$ (Ho a spol., 2013). V jiném experimentu byl kompostován hnůj s obsahem salinomycinu. Jedná se o veterinární antibiotikum, které se v USA přidává do potravy jako prevence proti kokcidióze. Antibiotikum bylo degradováno po 38 dnech z 98,8 %, přičemž byl největší úbytek pozorován během prvních 6 dní (Ramaswamy a spol., 2010).

V nedávném článku autoři popsali provedení rozsáhlého experimentu, kde zkoumali degradaci 41 antibiotik během kompostování. Kompostování probíhalo v komerční kompostárně po dobu 171 dní. Jako materiál použili směs prasečího a drůbežího hnoje, jako substrát byly použity dřevní piliny. Kvůli hojnému používání antibiotik v chovech odkud byl pořízen hnůj, nebyla potřeba jej uměle kontaminovat. Analýzou bylo sledováno 41 antibiotik v 5 skupinách (13 sulfonamidů, 5 tetracyklinů, 12 fluorochinolonů, 6 makrolid a 5 antibiotik zařazených do skupiny ostatní). Největší úbytek polutantů byl pozorován v termofilní fázi a celkově se degradovalo až 64,7 % přítomných antibiotik, avšak účinnost pro jednotlivé skupiny se lišila. Nejvíce se degradovala makrolidová antibiotika (100 %) následované skupinou ostatních antibiotik (96,4 %) a tetracykliny (73,4 %), méně se degradovaly sulfonamidy (45,1 %). Fluorochinolony se nedegradovaly vůbec, což mohlo být opět způsobeno jejich nízkou koncentrací v hnoji, která nemusí být pro mikroorganismy dostupná (Zhang a spol., 2019).

Kromě organických mikropolutantů jsou problémem v kalu i patogeny. Využívání snadno dostupné hmoty mikroorganismy během kompostování vede k vysokému nárůstu teplot, což způsobí hygienizaci kalu. Vysoká teplota ovšem není jediným mechanismem odstranění patogenů. Během mezofilní fáze mění kompostovaná hmota své vlastnosti a stává se nevhodným prostředím pro růst a množení patogenů, zároveň dochází ke

kompetici nově se rozvíjejících mikroorganismů a patogenů (Dumontet a spol., 1999). To se potvrdilo například během kompostování hnoje z chovu prasat, který byl po 56 dnech bez přítomnosti bakterií *Salmonella*. V limitu byli i bakterie *E. Coli* a *Enterococcus* (McCarthy a spol., 2011).

Někteří autoři dokonce uvádí, že může dojít ke snížení biodostupnosti některých těžkých kovů, během kompostování. Mezi těžkými kovy a humínovými látkami, které jsou důležitým produktem kompostování, probíhají procesy jako adsorpce, vznik komplexů a redoxní reakce (Smith a spol., 2009, Fang a spol., 2016, Wu a spol., 2012, Ma a spol., 2019). Přidáním KH_2PO_4 a FeSO_4 během kompostování kalu může taktéž snížit mobilitu těžkých kovů (Xiankai a spol., 2019).

Jelikož je kompostování aerobní proces, kyslík je limitujícím prvkem při degradaci polutantů během kompostování. Špatné nebo žádné zásobené kompostu kyslíkem vede k výraznému snížení účinnosti biodegradace, což může hrát důležitou roli v případě pasivně provzdušňovaného kompostu. Uprostřed těchto kompostů se mohou hodnoty kyslíku blížit nule (Sadef a spol., 2015). Teplota je dalším zásadním faktorem ovlivňující vývoj mikrobiálních kolonií během kompostování. Díky teplotám vyšším než 60 °C dochází k usmrcení patogenů, zároveň může docházet ke snížení aktivity mikroorganismů podílejících se na kompostování (Fogarty a spol., 1991). Autoři článku z roku 2014 se zabývali vlivem různých teplot na degradaci mikropolutantů během kompostování. V experimentu použili kal kontaminovaný směsí mikropolutantů (detergenty, zháseče hoření, prekurzory pro výrobu léčiv, PCPs), který kompostovali po dobu 52 dní. Jako optimální rozsah teplot pro degradaci určili rozmezí mezi 35-60 °C, přičemž doporučují co nejdéle držet teploty nad 40 °C (Sadef a spol., 2014). Vliv na degradaci má i délka samého kompostování. Většina polutantů se rozkládá již během termofilní fáze (Namkoong a spol., 2002, Ramaswamy a spol., 2010, Zhang a spol., 2019). Z článků popsaných výše může být patrné, že míru degradace ovlivňuje i koncentrace polutantu. Nízké koncentrace polutantů se mohou sorbovat na organickou hmotu přítomnou v kompostu, čímž se sníží jejich biodostupnost (Zhang a spol., 2019, Khadra a spol., 2019, Ezzariai a spol., 2018). Biodostupnost ovlivňují jednak vlastnosti samotného polutantu (struktura, koeficient K_{ow} atd.), vlastnosti prostředí (pH, přítomnost organické hmoty, chemické složení atd.) ale i čas (aging) (Hofman a spol., 2019). Přidání půdy nebo kalu, který už prošel remediací k novému kompostu může také zvýšit účinnost

degradace, protože se přítomné mikroorganismy už aklimatizovaly na daný polutant (Namkoong a spol., 2002).

4. CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY

Cíle práce:

- provedení experimentu zaměřeného na kompostování kalu s obsahem mikropolutantů
- zjištění míry degradace nově zkoumaných látek
- určení fáze kompostování, ve které je degradace sledovaných skupin mikropolutantů nejúčinnější
- sledování vývoje estrogenní aktivity pomocí β -galaktozidázového testu během kompostování a porovnání s degradací ED
- popsání vývoje v kompostu pomocí analýzy PLFA

Hypotézy:

- Kompostování je účinnou metodou degradace mikropolutantů ze skupiny ED, farmak, sladidel a stimulantů
- Při kompostování se snižuje estrogenní aktivita
- Analýza PLFA je vhodná metoda pro sledování průběhu kompostování kalu

5. MATERIÁLY A METODY

5.1. Standardy

17 α -ethinylestradiol (98%)	Sigma-Aldrich, ČR
2-chloroprothioxanthen-9-on (98%)	Sigma-Aldrich, ČR
2-isopropenylbenzofenol (čistý)	Aquatest, ČR
amitriptylin hydrochlorid ($\geq 98\%$)	Sigma-Aldrich, ČR
bisphenol A (99+%)	Sigma-Aldrich, ČR
butamirat (čistý)	Aquatest, ČR
dibutylftalát ($\geq 99\%$)	Sigma-Aldrich, ČR
diethylftalát (99,5%)	Sigma-Aldrich, ČR
diklofenac sodium salt (čistý)	Sigma-Aldrich, ČR
dosulepin hydrochlorid (čistý)	Sigma-Aldrich, ČR
dosulepin karbinol (čistý)	Aquatest, ČR
β -estradiol ($\geq 98\%$)	Sigma-Aldrich, ČR
estriol ($\geq 97\%$)	Sigma-Aldrich, ČR
estrone ($\geq 97\%$)	Sigma-Aldrich, ČR
chlorhexidin ($\geq 99,5\%$)	Sigma-Aldrich, ČR
chlorprothioxen hydrochlorid (čistý)	Sigma-Aldrich, ČR
ibuprofen ($\geq 98\%$)	Sigma-Aldrich, ČR
karbamazepin (čistý)	Sigma-Aldrich, ČR
ketoprofen ($\geq 98\%$)	Sigma-Aldrich, ČR
kofein (čistý)	Sigma-Aldrich, ČR
melitracen karbinol (čistý)	Aquatest, ČR
methyl ester kyseliny tridekanové	Sigma-Aldrich, ČR
naproxen (čistý)	Sigma-Aldrich, ČR
sacharin (98+%)	Alfa Aesar, Německo
thiepinon (98%)	Alfa Aesar, Německo
triclosan ($\geq 97\%$)	Sigma-Aldrich, ČR

5.2. Použitý materiál, chemikálie a mikroorganismy

aceton	VWR, ČR
acetonitril (LC-MS)	VWR, ČR
dihydrogenfosforečnan draselný	Lach-Ner, ČR
hydroxid sodný	Penta, ČR
chloroform	VWR, ČR
kyselina dusičná 65%	Penta, ČR
kyselina mravenčí (LC-MS)	Fluka, Německo
kyselina octová 99%	Lach-Ner, ČR
methanol (HPLC)	VWR, ČR
methanol (LC-MS)	VWR, ČR
mořský písek	Penta, ČR
n-hexan	VWR, ČR
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> kmen BMAEReluc/ER α	Piia Leskinen, oddělení biochemie University of Turku, Finsko
toluen	VWR, ČR

5.3. Přístrojové vybavení

analytické váhy AE 240	Mettler, Švýcarsko
ASE 200 Accelerated Solvent Extraction Systém	Dionex, USA
autokláv AUT26/II	N/A
autosampler CombiPAL	Varian, USA
centrifuga EBA 20	Hettich, Německo
centrifuga EBA 200	Hettich, Německo
detektor Waters 2996 PDA	Waters, USA
flow – box s klimatizačním systémem Fatran	N/A

hmotnostní detektor 240-MS	Varian, USA
hmotnostní detektor Qtrap 4500	Sciex, USA
ICP-MS Thermo X-seriesQuad	Thermo Elemental, UK
kapalinový chromatograf Nexera XR	Shimadzu, Japonsko
kapalinový chromatograf Waters Alliance 2695	Waters, USA
kolona CortecsT3 2,7 µm, 3 mmx150 mm	Waters, USA
kolona LiChrolut® Si (25-40 µm) 200 mg 3 ml	Merck, Německo
kolona XBridge® Shield RP 18 3,5µm, 100 mm x 4, 6 mm	Merck, Německo
lyofilizátor	Labio, ČR
mixér Activmix premium 2103	Eta, ČR
orbitální třepačka PSU-10i	Biosan, Litva
plynový chromatograf 450-GC	Varian, USA
purifikační systém Direct-Q®	Merck, Německo
spektrofotometr Infinite M200 PRO NanoQuant	Tecan, Švýcarsko
stolní pH metr inoLab 7110	WTW, ČR
stříkačkový filtr Chromafil Xtra GF/PTFE	Macherey Nagel, Německo
system na čištění vody Direct-Q® 3 UV	Merck, Německo
třepačka GFL 3006	Burgwedel, Německo
ultrazvuková lázeň K-12	Kraintek, ČR
upravený biologický termostat BT 120 M	Lab Systém, ČR
váhy EG-N	Kern, Německo
vodní lázeň Julabo UC	Julabo, Německo
vortex IKA MS3 digital	Works, USA
vortex mixer ZX Classic VELP	Scientifica, Itálie

5.4. Degradace mikropolutantů kompostováním

5.4.1. Příprava experimentu

Kompostování probíhalo v reaktorech umístěných v kompostéru. Reaktory byly skleněné nádoby o objemu 3 litrů. Na dně reaktoru byla přilepena perforovaná Petriho miska se zavedenou hadičkou, kterou byl do reaktoru přiváděn vzduch. Na dno reaktoru bylo nasypáno 400 ml perlitu zbaveného jemné frakce pomocí síta \varnothing 4 mm. Perlit z kompostu odváděl přebytečnou vlhkost a napomáhal distribuci vzduchu. Ve dvou experimentech byly použity 2 kaly (S a F).

V prvním experimentu byl použit kal S, který byl uměle kontaminovaný směsí látek. Kal byl nejprve lyofilizován (Lyofilizátor, Labio, ČR) a zbaven hrubé frakce pomocí síta \varnothing 1 mm. Dále byl připraven kontaminační roztok z acetonu a směsi kontaminantů o objemu 0,5 l. Připravený roztok byl po malých částech přiléván ke kalu, který byl průběžně promícháván. Aceton z roztoku byl volně odpařen. Seznam látek a jejich uměle přidané množství (C) do kalu je uvedena v tabulce 1.

TABULKA 1: LÁTKY POUŽITÉ K UMĚLÉ KONTAMINACI KALU S

Název	Zkratka	Skupina látek	C ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Název	Zkratka	Skupina látek	C ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Chlorhexidin	CHX	PCPs	8	Sacharin	SAC	Sladidla	80
Triclosan	TRC	PCPs	8	Dibutylftalát	DBP	Ftaláty	80
Amitriptylin	AMI	Farmaka	80	Diethylftalát	DEP	Ftaláty	80
Karbamazepin	KAR	Farmaka	80	Bisfenol A	BPA	ED's	80
Ketoprofen	KET	Farmaka	80	Estron	E1	ED's	80
Naproxen	NAP	Farmaka	80	Estradiol	E2	ED's	80
Ibuprofen	IBU	Farmaka	80	Estriol	E3	ED's	80
Diklofenak	DIK	Farmaka	80	17-ethinyloestradiol	EE2	ED's	80
Kofein	KOF	Stimulanty	80				

V druhém experimentu byl použit reálný vzorek kalu. Kal F, procházel z ČOV, která čistila odpadní vody z průmyslového zařízení na výrobu léčiv FARMAK Olomouc. Nacházely se v něm především prekursorů pro výrobu léčiv a farmaka v koncentracích v řádu $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, sledované látky jsou uvedeny v tabulce 2.

TABULKA 2: SLEDOVANÉ LÁTKY V KALU F

Kal F	
Název	Zkratka
Dosulepin-C	DSL
Melitracen	MELC
Dosulepin	DSL
Amitriptylin	AMI
Butamirat	BUT
Thiepinon	THP
Chloroprothioxen	CPX
2-isopropenylbenzofenol	IPB
2-chloroprothioxanthen-9-on	CPTX

V den založení kompostu byl připraven substrát o 75% vlhkosti. Jako substrát byl použit standardizovaný surový materiál, používaný pro kultivaci pečárky dvouvýtrusné (*Agaricus bisporus*), poskytnutý z lokální společnosti produkující kompost. Substrát byl smíchán s vodou v poměru 1:3 a nechal se nasáknout. Po vstřebání vody byl postupně vrstven s kalem do reaktorů. Jedna vrstva byla 80 g substrátu a 25 g kalu. Po naplnění reaktoru byl materiál stlačen pro lepší kontakt substrátu s kalem. V prvním experimentu bylo použito 6 naplněných reaktorů. Ve druhém experimentu byly použity 4 reaktory pro každý kal, tudíž 8 reaktorů.

5.4.2. Průběh experimentu

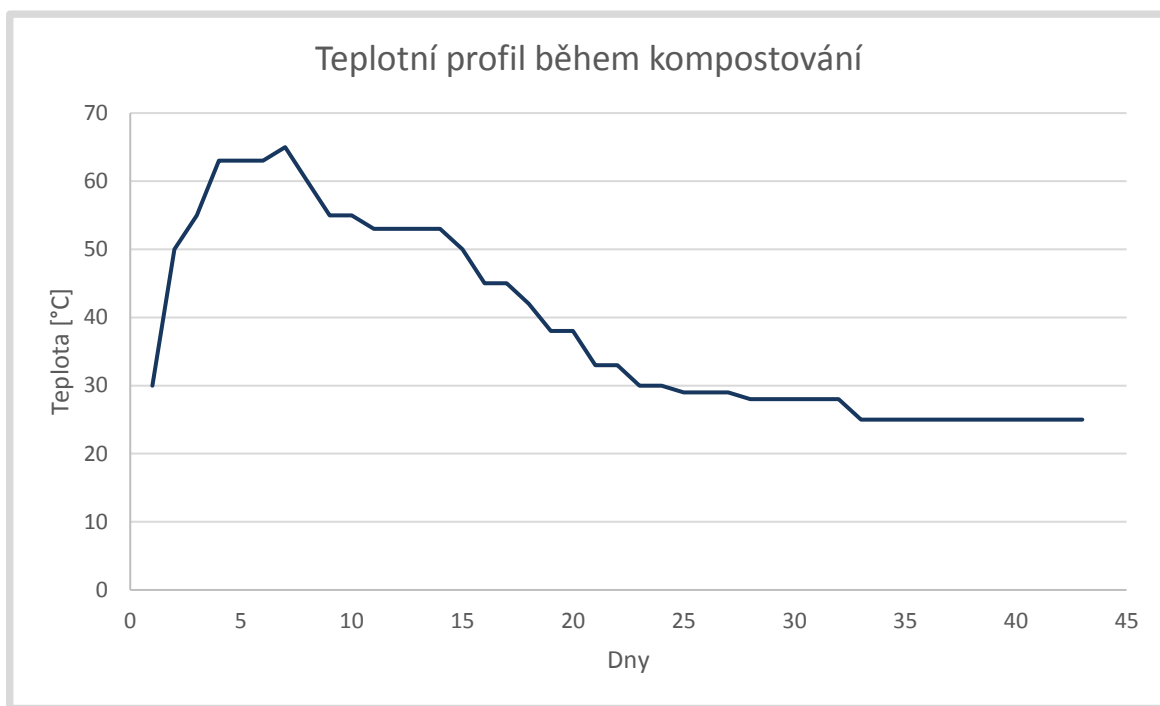
Kompostování probíhalo za kontrolovaných podmínek v kompostéru (Upravený biologický termostat BT 120 M, obrázek 1). Kompostér měl v sobě zabudované vzduchování, které zajišťovalo provzdušnění kompostu v reaktoru. Průtok vzduchu byl 100 ml·min⁻¹ pro každý reaktor. Na bocích měl kompostér dvě řady nádob. Ve spodní řadě nádob byla destilovaná voda a probublával přes ni vzduch proudící do reaktorů, do horních nádob přicházel vzduch z reaktorů a kondenzovala zde odpařená voda.



OBRÁZEK 1: KOMPOSTÉR (KOČÍ, 2018)

Zkondenzovaná voda byla průběžně vylévána. V průběhu experimentu bylo zapotřebí měnit teplotu podle fází kompostování, teplotní profil je znázorněn na Obrázku 2. Reaktory byly umístěny v kompostéru po 42 dní. V průběhu experimentu bylo nutné doplňovat odpařenou vodu, aby měl kompost optimální vlhkost po celou dobu experimentu. Množství odpařené vody se zjistilo pomocí změny hmotnosti reaktoru.

Dále byly provedeny odběry v den 0, 3, 9, 21, 42, 150 u kompostu F a v dny 0, 3, 9, 21 a 42 u kompostu S. Odběry ve dnech 0-42 byly zvoleny pro to, že v nich končily jednotlivé fáze kompostování. Při odběru byla z reaktoru odebrána výseč kompostu o hmotnosti cca 100 g. Po odběru byl kompost rozhrnut a udusán, aby vzduch neproudil jen nově vzniklým prostorem. Vzorky byly následně uloženy v mrazáku do doby, než byly dále zpracovány příslušnými analýzami.



OBRÁZEK2: GRAF TEPLITNÍHO PROFILU BĚHEM KOMPOSTOVÁNÍ

5.5. Fyzikálně chemické metody

5.5.1. Extrakce pevných matric vysokotlakou extrakcí rozpouštědlem (ASE)

Vzorky byly před extrakcí vysušeny lyofilizací (Lyofilizátor, Labio, ČR) a homogenizovány pomocí mixéru (Activmix premium 2103, Eta, ČR). Do připravené patrony o objemu 11 ml byl vložen papírový filtr a malé množství mořského písku. Dále bylo do patrony naváženo přibližně 1,5 g vzorku (kompost S) nebo přibližně 2,0g (kompost F), zbylý objem patrony byl doplněn mořským pískem a patrona byla uzavřena víkem s papírovým filtrem. Extrakce vzorku byla provedena ve třech paralelách, podle metody Křesinové (Křesinová a spol., 2016). Podmínky během vysokotlaké extrakce rozpouštědlem byly následující: predehřátí 5 minut, ohřívání 5 minut, statická fáze 5 minut, 3 cykly, tlak 1500 psi a teplota 80 °C. Jako rozpouštědlo byl použit methanol o LC-MS čistotě. Získané extrakty se zkoncentrovaly částečným odpařením. Extrakty byly odpařeny na desetinu původního objemu. Viala byla zvážena prázdná (m_1), viala po odpaření (m_2) a po odebrání 300 μ l na analýzu (m_3). Hustota byla zjištěna podle výpočtu $\rho = \frac{(m_2 - m_3)}{0,3}$. Objem extraktu po odpaření se zjistil výpočtem $V = \frac{m_2 - m_1}{\rho}$. Po částečném

odpaření se odebralo 300 µl extraktu do vialy o objemu 2 ml s insertem. Centrifugací (Centrifuga EBA 200, Hettich, Německo) při 6000 rpm po dobu 5 minut byla oddělena sraženina a čirý supernatant byl přenesen pipetou do nové vialy o objemu 2 ml s insertem. Před chromatografickým stanovením byl uložen v lednici.

5.5.2. Detekce polutantů kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí (LC-MS/MS)

Analýza extraktů z kompostu s kalem F a farmak, PCPs, kofeinu a sacharinu z kalu S byla provedena pomocí kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (kapalinový chromatograf Nexera XR, Shimadzu, Japonsko a hmotnostní detektor Qtrap 4500, Sciex, USA). Analyzované látky byly separovány na koloně Cortecs T3 2,7 µm, 3 mm x 150 mm, která byla opatřena příslušnou předkolonou. Ionizace elektrosprejem probíhala v negativním (SAC a TRC) i pozitivním (DSL, MELC, DSL, AMI, BUT, THP, CPX, IPB, CPTX, DIK, KAR, KOF, NAP, CHX, KET, IBU) módu. Pro detekci analytů byl použit režim monitorování vybraných reakcí (MRM). Ostatní podmínky MS byly následující: teplota odpařovacího plynu 450 °C, operační teplota 40 °C, napětí na kapiláře 5,5 kV a -4,5 kV, protiproud N₂ s tlakem 20 psi, průtok rozprašovacího plynu: 40 psi, průtok odpařovacího plynu: 50 psi, nástřik vzorku 5 µl.

Pro detekci látek z kompostů byly použity mobilní fáze A a B. Mobilní fáze A byl 10% acetonitril s 0,1% kyselinou mravenčí připravenými v ultračisté vodě (18.2 MΩ; Purifikační systém Direct-Q®, Merck, Německo), mobilní fáze B byl čistý acetonitril. Program gradientové eluce s průtokem 0,4 ml·min⁻¹ byl pro stanovení extraktů B následující: (min/% B): 0/10 % B, 0,5/10 % B, 8/70 % B, 9/100 % B, 12/100 % B, 12,5/10 %, 15/10 % B, pro stanovení extraktů F: (min/% B): 0,1/10 % B, 1,5/10 % B, 9/90 % B, 11/100 % B, 13/100 % B, 13,5/10 %, 15/10 % B a pro stanovení extraktů S: (min/% B): 0,1/20 % B, 0,5/20 % B, 6/70 % B, 7/100 % B, 10/100 % B, 10,5/20 % B.

Pro analýzu látek byly připraveny dvě kalibrační řady, jako rozpouštědlo byl použit methanol v LC-MS kvalitě. Pro analýzu extraktů F byla z příslušných standardů připravena kalibrační řada o 9 bodech. Pro DSLC, MELC, DSL, AMI a BUT byly body v těchto koncentracích: 0,1; 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 25; 50 a 100 ng·g⁻¹. Pro THP, CPX a IPB měli body následující koncentrace: 0,25; 1,25; 2,5; 6,25; 12,5; 25; 62,5; 125 a 250 ng·g⁻¹ a pro CPTX: 0,5; 2,5; 5; 12,5; 25; 50; 125; 250 a 500 ng·g⁻¹. Pro analýzu extraktů S byla připravena z příslušných standardů kalibrační řada o sedmi bodech. Body měly

následující koncentrace: 500; 50; 25; 10; 5; 1; 0,5 ng·g⁻¹ pro KOF, KAR, DIK, KET, NAP, AMI, CHX, SACH, IBU, TRC.

5.5.2.1. Vyhodnocení

K vyhodnocení dat byl použit vyhodnocovací software Analyst 1.6.3. Pomocí kvadrupólu se sledují specifické přechody mezi prekursorovým a produktovým iontem daného analytu. Přechody a podmínky pro jednotlivé analyty jsou znázorněny v tabulce 3.

TABULKA 3: PŘECHODY A PODMÍNKY BĚHEM LC-MS/MS

Analyt	Ion prekurzoru (Q1)	Kvantifikační ion (Q3)	Konfirmační ion (Q3)	Retenční čas (RT, min)	Deklasterační potenciál (DP, V)	Vstupní potenciál (EP, V)	Kolizní energie (CE, V)	Výstupní potenciál (CXP, V)
AMI	278,113	117	191	4,72	76	10	27 (33)	12 (14)
DSL	296,057	222,9	202	4,75	101	10	33 (65)	16 (20)
CPX	316,007	270,9	220,9	4,97	76	10	27 (47)	22 (16)
BUT	308,128	100	191	4,29	1	10	27 (31)	10 (18)
DSL	314,055	296,1	223	4	41	10	17 (33)	10 (6)
MELC	310,106	292,1	247	3,85	26	10	13 (29)	8 (8)
THP	226,975	194	165	6,58	66	10	25 (49)	16 (12)
IPB	223,021	208	178,1	7,37	26	10	27 (57)	16 (14)
CPTX	247,02	217	183,9	7,65	136	10	35 (45)	6 (14)
KOF	194,999	138	110,1	4	61	10	25 (31)	14 (8)
KAR	236,999	194	165	7,3	71	10	29 (55)	18 (12)
DIK	295,988	214	151	9,8	1	10	45 (83)	20 (12)
KET	255,024	209	104,9	8,5	66	10	19 (31)	14 (10)
NAP	231,013	185	170	8,6	71	10	19 (35)	12 (16)
CHX	253,068	169,9	153	7,2	21	10	21 (33)	16 (10)
AMI	278,113	117	191	7,6	76	10	27 (33)	12 (14)
IBU	204,948	159,1	160,9	10	-50	-10	-10 (-10)	-7 (-7)
SAC	181,785	105,7	62	3,3	-75	-10	-24 (-26)	-7 (-9)
TRC	286,746	35	36,8	10,8	-60	-10	-30 (-32)	-3 (-5)

5.5.3. Detekce polutantů kapalinovou chromatografií s UV detekcí (LC-UV)

Analýza extraktů S (E1, E2, E3, EE2, BPA, DEP, DBP) byla provedena na kapalinovém chromatografu Waters Alliance 2695 s UV detektorem Waters 2996 PDA. Tyto látky se analyzovaly touto metodou, protože se během ní dosáhne lepších limitů

detekce nežli u LC-MS/MS u vzorků bez derivatizace. Navíc během LC-MS/MS hrozí u ftalátů falešně pozitivní výsledky kvůli kontaminaci vzorků laboratorním plastem. Analyzované látky byly separovány na koloně XBridge® Shield RP 18 3,5μm, 100 cm x 4,6 mm. Detekce probíhala v těchto podmínkách: průtok 0,8 ml/min, teplota 35 °C, při maximální šířce spektra. Jako mobilní fáze byl použit 10% acetonitril připravený z ultračisté vody (18.2 MΩ; Purifikační systém Direct-Q® 3 UV, Merck, Německo) (D) a čistý acetonitril (C). Program gradientové eluce byl následující (min/% B): 9/20 % C, 14/50 % C, 20/55 % C, 23/100 % C, 23,1/20 % C.

Z příslušných standardů byla připravena kalibrační řada o sedmi bodech připravených v metanolu v kvalitě HPLC. Body byly o následujících koncentracích: 100; 50; 25; 10; 5; 2,5; 1; 0,5 a 0,1 μg·g⁻¹.

5.5.3.1. Vyhodnocení

Jako vyhodnocovací software byl použit Waters Empower 2. Látky byly identifikovány na základě retenčních časů a pomocí UV spekter, porovnaných s příslušnými standardy. K vyhodnocení a grafickému zpracování dat z LC-UV byl použit Microsoft Excel 2016.

5.5.4. Analýza fosfolipidických mastných kyselin

Principem této metody je extrakce lipidů ze vzorku. Lipidy jsou součástí buněčných membrán a stěn. Extrahované fosfolipidy se izolují a následně se z nich uvolní mastné kyseliny. Mastné kyseliny se převedou na methylestery, které se poté stanoví na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí.

5.5.4.1. Extrakce lipidů

Pro extrakci lipidů bylo naváženo 0,1 g lyofilizovaného a zhomogenizovaného vzorku do vypálené zkumavky. Zkumavky byly vypáleny při 300 °C po dobu 4 hodin. Extrakce vzorku byla provedena ve třech paralelách. Ke vzorku byla přidána extrakční směs (1,25 ml methanolu, 0,5 ml 50 mM KH₂PO₄ o pH 7,4 a 0,625 ml chloroformu). Zkumavka byla uzavřena víčkem s teflonovou vložkou. Směs byla promíchána pomocí vortexu a následně umístěna do temné komory kde probíhala extrakce po dobu jedné hodiny při pokojové teplotě. Po hodině byly vzorky umístěny do centrifugy na 5 minut při 3500 rpm (Centrifuga EBA 20, Hettich, Německo). Vzniklý supernatant byl odebrán Pasteurovou pipetou do další vypálené zkumavky, která byla uzavřena víčkem s teflonovou vložkou a

umístěna do tmy. Ke vzorku bylo přidáno 1,25 ml methanolu a 0,625 ml chloroformu. Vzorek byl opět promíchán vortexem a umístěn na hodinu do tmavé komory. Po hodině byl vzorek umístěn do centrifugy při stejných podmínkách a následný supernatant byl odebrán a přidán k prvnímu. Ke vzorku bylo ještě jednou přidáno stejné množství chloroformu a methanolu, vzorek byl promíchán a proces extrakce zopakován za stejných podmínek. Supernatant byl ze všech tří extrakcí sbírán do jedné vypálené zkumavky. Po třech extrakcích bylo k supernatantu přidáno 1,88 ml pufru (50 mM KH_2PO_4 o pH 7,4) a 1,88 ml chloroformu, směs byla zamíchána pomocí vortexu, poté byla umístěna do lednice přes noc. Extrahovaný materiál byl zlikvidován.

Druhý den byla zkumavka se supernatantem umístěna do centrifugy na 5 minut při 3500 otáčkách za minutu. Těmito kroky byla získána dvoufázovou směs. Spodní chloroformová fáze obsahovala lipidy, vrchní vrstva obsahovala ve vodě rozpustné substance jako uhlovodíky, proteiny, DNA apod. Pasteurovou pipetou byla přenesena spodní chloroformová část do vypálené vialy a uzavřena víčkem se septem. Ke zbylé vodní fázi bylo přidáno 1,88 chloroformu a směs byla vortexována. Směs byla opět umístěna do centrifugy při stejných podmínkách. Následně byla spojena spodní fáze s předešlou a vodná část byla vylita do odpadní nádoby.

5.5.4.2. Frakcionace lipidů

Pro frakcionaci lipidů byl získaný extrakt odpařen. V digestoři byly připraveny kolonky LiChrolut® Si (25-40 μm) 200 mg 3 ml (Merck, Německo). Kolonka byla prvně kondicionována 1,5 ml chloroformu. Vzorek byl rozpuštěn v 300 μl chloroformu a rychle nanesen na kolonku, aby nevyschla. Po nanesení vzorku na kolonku byly nejprve vymývány neutrální lipidy 2 ml chloroformu, následně glykolipidy 6 ml acetonu a jako poslední fosfolipidy 2 ml methanolu, tato frakce byla sbírána do vypálené vialy.

5.5.4.3. Mírná alkalická methanolýza (transesterifikace)

Vzorek s fosfolipidy byl odpařen. Do vialy se vzorkem bylo přidáno 0,5 ml toluenu a 0,5 ml metanolu a vzorek zamíchán pomocí vortexu. Ke vzorku byl přidán 1 ml čerstvě připraveného 0,2 M KOH v bezvodém metanolu a vzorek byl inkubován 15 min při 37 °C ve vodní lázni. Po inkubaci bylo ke vzorku přidáno 1,6 ml hexanu, 0,4 ml chloroformu, 0,3 ml 1 M kyseliny octové a 2 ml destilované vody a směs promíchána vortexem. Vzorek byl umístěn do centrifugy na 5-10 min při 2500 otáčkách za minutu. Mírnou alkalickou methanolýzou byly mastné kyseliny vázané ve fosfolipidech uvolněny a převedeny na

methylestery. Horní fáze byla odebrána do čisté vialy a vzorek byl ještě dvakrát promyt 1,6 ml hexanu a 0,4 ml chloroformu a promíchán vortexem a centrifugován. Spojené 3 horní fáze byly odpařeny, následně byla viala opláchnuta 950 μ l hexanu pomocí vortexu a celý objem byl přenesen do krimpovací vialy. Do krimpovací vialy bylo přidáno 50 μ l vnitřního standardu (methyl ester kyseliny tridekanové o koncentraci 200 μ g·g⁻¹) a následně byla viala uzavřena krimpovacími kleštěmi. Do měření na plynovém chromatografu byl vzorek uchován v lednici.

5.5.4.4. Detekce plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (GC-MS)

Analýza probíhala na plynovém chromatografu Varian 450-GC s hmotnostním detektorem Varian 240-MS. Separace analytů probíhala na koloně DB-5MS (délka 30 m, vnitřní průměr 0,25 mm, tloušťka stacionární fáze 0,25 μ m) Vzorek byl dávkován autosamplerem Combi Pal, injektováno bylo 1 μ l vzorku, teplota injektoru byla 240 °C, jako nosný plyn bylo použito helium o průtoku 1 ml/min. Teplotní program začal při stálé teplotě 60 °C a trval 1 min, se zavřeným děličem. Potom byl dělič otevřen (split ratio 1:50), teplota stoupala lineárně do 120 °C (o 25 °C za minutu), poté do 240 °C (o 2,5 °C za minutu) a tato teplota byla udržována 10 min. K detekci byla použita elektronová ionizace (70 eV). Měření byl celkový iontový proud v rozsahu 50–400 m/z. Látky byly identifikovány na základě retenčních časů a hmotnostních spekter porovnaných s příslušnými standardy. Kalibrační křivky byly složeny z pěti bodů v koncentračním rozsahu 0,1–10 μ g·ml⁻¹.

5.5.4.5. Vyhodnocení

Skupiny mikroorganismů přítomných ve vzorcích kompostů byly určovány pomocí součtu koncentrací mastných kyselin charakteristických pro jednotlivé skupiny (Šnajdr a spol., 2008, Němeček a spol., 2014).

- ❖ Aktinobakterie-10Me-16:0, 10Me-17:0, 10Me-18:0
- ❖ Gram pozitivní bakterie-i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0
- ❖ Gram negativní bakterie-16:1 ω 7, 16:1 ω 5, cy17:0, cy19:0, 18:1 ω 7
- ❖ Bakterie celkem-i14:0, i15:0, a15:0, 15:0, i16:0, 16:1 ω 9, 16:1 ω 7, 16:1 ω 5, 10Me-16:0, i17:0, a17:0, cy17:0, 17:0, 10Me-17:0, 18:1 ω 7, 10Me-18:0, cy19:0
- ❖ Celková biomasa-i14:0, i15:0, a15:0, 15:0, i16:0, 16:1 ω 9, 16:1 ω 7, 16:1 ω 5, 16:0, 10Me-16:0, i17:0, a17:0, cy17:0, 17:0, 10Me-17:0, 18:1 ω 7, 10Me-18:0, cy19:0, 18:2 ω 6,9, 18:1 ω 9

5.5.5. Analýza nebiogenních kovů

Analýza byla provedena na Ústavu pro hydrodynamiku, AV ČR, v.v.i., podle metody Štursa (Štursa, 2012). Prvně byl navážen 1 g vzorku, který byl následně loužen 50 ml 2M HNO₃. Vzorek byl zamíchán a ponechán přes noc. Druhý den byl vzorek 1 hodinu třepán na třepačce (třepačka GFL 3006, Burgwedel, Německo) a pak byl ponechán 1 hodinu odstát. Tekutý podíl byl protlačen přes stříkačkový filtr Chromafil Xtra GF/PTFE - 45/25, 25 mm 1.0/0.45 um (Macherey Nagel, Německo). Vzorky pak byly analyzovány atomovou hmotnostní spektrometrií buzenou indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS Thermo X-seriesQuad, Thermo Elemental, UK).

5.6. Biologické metody

5.6.1. Měření estrogení aktivity β -galaktozidázovým testem

V testu byla použita geneticky modifikovaná kvasinka pивní (*Saccharomyces cerevisiae*, kmen BMAEReluc/ER α) s estrogením receptorem a plazmidem s reportérovým genem lac-Z, který po aktivaci exprimuje enzym β -galaktozidáza. Enzym je syntetizován a vylučován do média v přítomnosti látek interagujících s receptorem. V mediu štěpí enzym přítomný chromogenní substrát (chlorfenol red- β -D-galaktopyranosidáza-CPRG) a dojde tak ke změně zabarvení roztoku ze žluté na červenou. Intenzita zabarvení je úměrná koncentraci přítomných estrogeně aktivních látek. Metoda byla provedena podle Routledge (Routledge a spol., 1996).

5.6.1.1. Příprava médií a uchovávání kultury

Kultivační medium bylo připraveno vždy čerstvé z 0,5 ml vitamínového roztoku (8 mg pyridoxinu, 8 mg thiaminu, 8 mg kyseliny pantothenové, 20 ml roztoku biotinu o koncentraci 2 mg/100 ml, 40 mg inositolu a 180 ml destilované vody), 1,25 ml kyseliny L-aspartové o koncentraci 4 mg/ml, 0,125 ml síranu měďnatého o koncentraci 20 mM, 0,4 ml L-threoninu o koncentraci 24 mg/ml, 5 ml glukózy o 20 % (w/v) a 45 ml minimálního média (13,61 g KH₂PO₄, 1,98 g (NH₄)₂SO₄, 4,2 g KOH, 0,2 g MgSO₄, 1 ml Fe₂(SO₄)₃ o koncentraci 40 mg/50 ml, 50 mg leucinu, 50 mg histidinu, 50 mg adeninu, 20 mg argininu – HCl, 20 mg methioninu, 30 mg tyrosinu, 30 mg isoleucinu, 30 mg lysinu – HCl, 25 mg 35 fenylalaninu, 100 mg kyseliny glutamové, 150 mg valinu, 375 mg serinu a 1 L destilované vody). Složky kultivačního média byly buď sterilizovány v autoklávu při 121 °C po dobu 30 minut nebo filtrací (0,22 μ m) ve flow-boxu. Kvasinková kultura

byla připravena z 0,5 ml kvasinkové suspenze uchované při -80 °C a 20 ml kultivačního media a přes noc kultivována ve sterilní Erlenmeyerově baňce na orbitální třepačce (Orbitální třepačka PSU-10i, Biosan, Litva) při 140 rpm a 28 °C. Kvasinková kultura ($OD_{640} = 1$, optická densita 1 při vlnové délce $\lambda = 640$ nm) byla následně použita pro experiment a případně pro další uchovávání ve směsi s glycerolem (1:1) při teplotě minus 80 °C.

5.6.1.2. Průběh testu

Délka testu činila 5 dní. Všechny úkony byly prováděny za sterilních podmínek ve flow-boxu a vzniklý odpad kontaminovaný GMO byl sterilizován při 121 °C po dobu 30 minut, nebo pečlivě zneškodněn desinfekčním prostředkem savo. Testy byly provedeny ve třech paralelách.

Extrakt (kapitola 5.4.1) pro stanovení estrogenní aktivity byl postupným odpařováním pod proudem N_2 převeden do 30% DMSO. Dvacet μ l extraktu, blanku (30% DMSO) nebo pozitivní kontroly (17 β -estradiol ve 30% DMSO) bylo v 96-ti jamkové destičce smícháno se 180 μ l experimentálního media. Experimentální medium bylo připraveno z 50 ml kultivačního media, 0,5 ml CPRG (10 mg/ml) a 2 ml kvasinkové suspenze kultivované přes noc ($OD_{640} = 1$). Destičky byly zalepeny páskou, aby nedošlo ke kontaminaci a obsah byl opatrně promíchán. Kvasinky v destičkách byly následující 3 dny inkubovány při teplotě 28 °C a poté byla změřena optická densita při vlnové délce $\lambda = 540$ nm pro stanovení intenzity červeného zbarvení a pro stanovení pozadí bylo provedeno měření při vlnové délce $\lambda = 620$ nm. Každý vzorek byl měřen v několika ředěních a součástí každé 96-ti jamkové desky byla kalibrační řada 17 β -estradiolu.

5.6.1.3. Vyhodnocení

Výsledný efekt byl definován výpočtem, ve kterém byla od absorbance při $\lambda = 540$ nm odečtena hodnota absorbance při $\lambda = 620$ nm a hodnota rozdílu absorbancí blanku.

Výsledek byl převeden na 17 β -estradiol ekvivalent podle rovnice logistické křivky. Limit detekce byl vždy stanoven pro konkrétní měření na 15 % maxima odezvy 17 β -estradiolu.

5.7. Statistické vyhodnocení výsledků

K vyhodnocení dat byl použit software Jamovi 1.0.1. solid. Odlehlé hodnoty byly určeny pomocí krabicových grafů a vyřazeny. Pro zjištění, jestli se koncentrace dané látky liší v jednotlivých dnech, byla zvolena jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) pomocí Pos-Hoc Tukey testu. Hladina významnosti testu byla zvolena $p < 0,05$.

6. VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1. Degradace mikropolutantů během kompostování

6.1.1. Kompost S

Pro zjištění míry degradace mikropolutantů během kompostování uměle kontaminovaného kalu bylo nutné provést dvojí měření zvlášť pro ED a zvlášť pro farmaka. ED byly analyzovány pomocí LC-UV. Získané extrakty byly odpařeny a znovu rozpuštěny v 2,5 ml methanolu v HPLC čistotě. Hmotnost extraktu po odpaření a znovurozpuštěním byla zjištěna rozdílem hmotností prázdné vialy před extrakcí a hmotností vialy s extraktem. Hustota extraktu byla zjištěna pomocí přesného zvážení 0,3 ml odebraného alikvotu z extraktu, který byl dále použit k analýze. Ze získaného alikvotu se pomocí centrifugy oddělila sraženina, následně byl alikvot přenesen do čisté vialy a uchován v lednici do měření na LC-UV. Výsledky byly potřeba přepočítat na množství vzorku, který byl použit při extrakci podle výpočtu: $c_v = \frac{m_n \cdot c_s}{m_e}$, kde c_v značí výslednou koncentraci měřené látky, m_n hmotnost vzorku použitého při extrakci, c_s koncentraci změřenou kapalinovým chromatografem s UV detekcí a m_e hmotnost extraktu. Výsledky bylo ještě potřeba vynásobit koeficientem získaným pomocí dat z analýzy nebiogenních kovů, které sloužily jako vnitřní standard pro zjištění skutečného obsahu kalu ve směsi kal a kompostovací substrát. Jako reprezentativní nebiogenní kov byl zvolen hliník, který se vyskytoval v detekovatelném množství pouze v kalu.

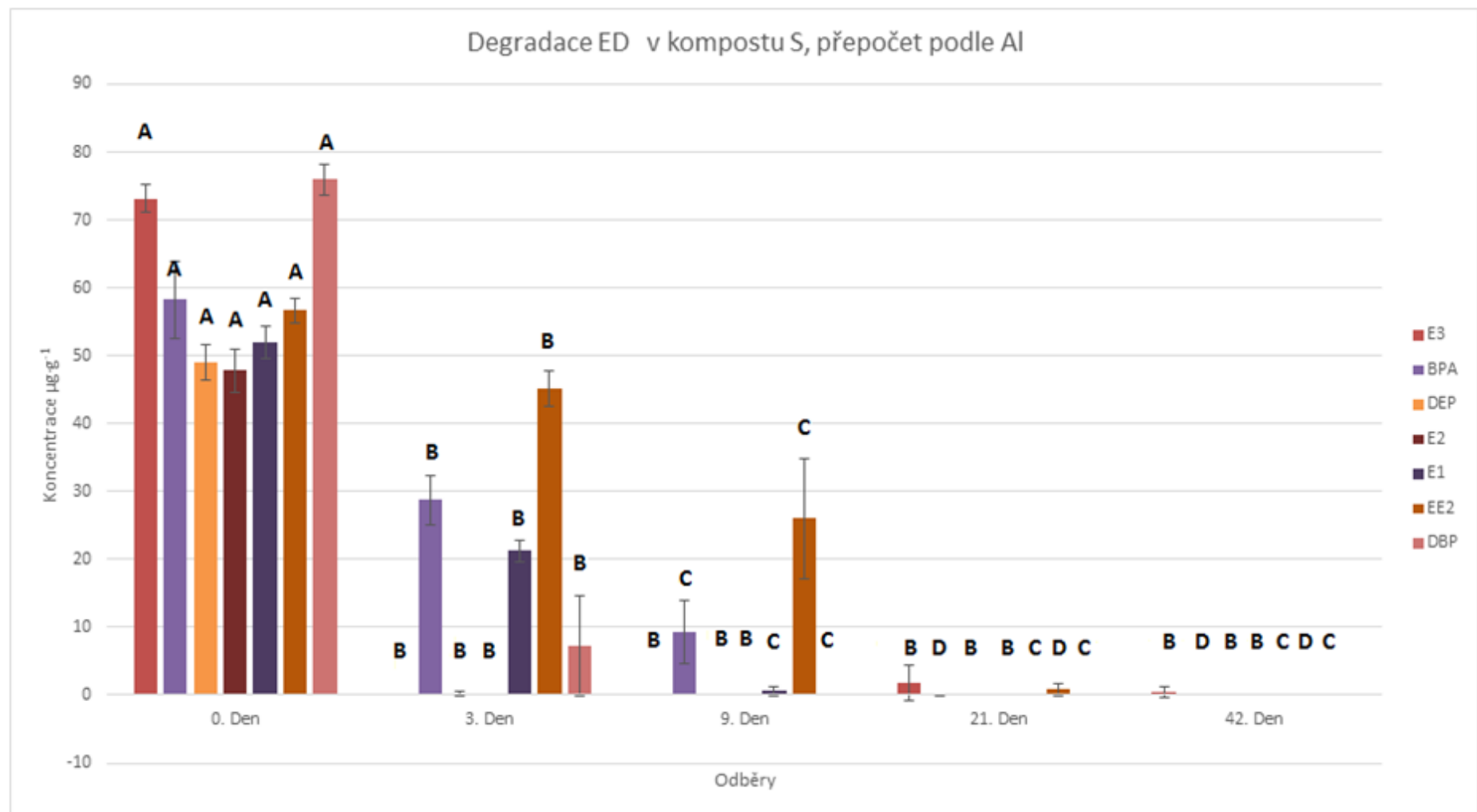
Statistické vyhodnocení bylo provedeno v programu Jamovi 1.0.1. solid. Pomocí ANOVA s Post-Hoc Tukey testem bylo zjištěno, které dny se signifikantně liší. Hladina významnosti testu byla $p=0,05$. V grafu na obrázku 3 byly různými písmeny označeny koncentrace dané látky, pokud se koncentrace v následných odběrech statisticky lišily.

Z grafického znázornění degradace na obrázku 3, je patrná velká míra úbytku mikropolutantů během kompostování ze skupiny ED. Výsledky byly získané z průměrů ze 3 paralel pro 0. den, pro den 3 a 42 z devíti paralel a pro den 9 a 21. z šesti paralel. V grafu jsou znázorněny koncentrace dané látky v $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ pro daný odběr se směrodatnou odchylkou. Nejvýznamnější pokles je pozorován už po prvních 3 dnech kompostování pro většinu zkoumaných mikropolutantů.

V tomto experimentu bylo pro E2 a E3 dosaženo podobných výsledků, jakých dosáhli Butkovskiy a kol. ve svém experimentu. Na rozdíl od experimentu uvedeném v této práci byla jejich teplota během kompostování vždy konstantní. Degradace >99 % pro E2 a E3 dosáhli jak u mezofilních teplot (35 °C), tak u termofilních teplot (50 °C) (Butkovskiy a spol., 2016). V tomto experimentu se teplotní profil měnil podle fází kompostování a úplná degradace E2 a E3 proběhla už během prvních 3 dní (počátek termofilní fáze) kompostování, což potvrdila i statistická analýza.

U E1, EE2 a BPA došlo k signifikantnímu rozdílu v koncentracích i v jiných dnech než u E2 a E3. Degradaci E1, EE2 a BPA není možné srovnat s literaturou, kvůli nedostatku prací zabývajících se degradací těchto látek během kompostování. Tyto látky byly do tohoto experimentu vybrány, protože se mohou nacházet v kalu. U E1 došlo k významnému poklesu mezi 0. a 3. dnem následovaným dalším poklesem mezi 3. a 9. dnem, tedy během počátku i na konci termofilní fáze. Degradaci E1 během termofilní fáze potvrdila i statistická analýza. BPA se také degradoval v termofilní fázi, tedy mezi 0. a 3. dnem a 3. a 9., po 9 dnech však nebyl degradován zcela a jeho degradace pokračovala dál i v mezofilní fázi, kdy se degradovalo 99,9 % přítomného BPA. Degradaci v těchto fázích potvrdila i statistická analýza. Degradace EE2 během termofilní fáze byla nejmenší ze zkoumaných ED. Statisticky významné rozdíly v koncentracích byly pozorovány už během termofilní fáze, kdy se rozložila 53,9 %. EE2. Další degradace probíhala v mezofilní fázi (9. až 21. den), kdy se EE2 rozložil z 98,5 % oproti koncentraci v 0. dni. Rozložení EE2 v termofilní i mezofilní fázi potvrdila i statistická analýza. EE2 a BPA se jeví jako odolnější vůči procesům v termofilní fázi nežli ostatní zkoumané ED. Jejich větší odolnost v termofilní fázi může být způsobena jejich strukturou.

DEP se z 99,6 % degradoval během prvních 3 dnů kompostování, na konci termofilní fáze už nebyl detekován ve vzorcích. Statistická analýza tyto výsledky potvrdila. DBP měl signifikantní rozdíl mezi 0. a 3. dnem kompostování. Nejvíce se DBP rozložil během prvních 3 dnů kompostování (z 89,1 %) stejně jako DEP, na konci termofilní fáze nebyl taktéž detekován ve vzorcích. Vyšší míra degradace DEP než DBP během prvních 3 dnů kompostování může být způsobena nižšími vstupními koncentracemi DEP. Největší míru degradace ftalátu během termofilní fáze pozorovali i Cheng a kol. ve svém experimentu, kdy zkoumali degradaci di-(2-ethyl-hexyl)ftalátu. Při jejich experimentu došlo během



OBRAŽEK 3: GRAF DEGRADACE ED V KOMPOSTU S

termofilní fáze k úbytku di-(2-ethyl-hexyl)ftalátu o 60 % a na konci experimentu pozorovali celkový úbytek o 85 % (Cheng a spol., 2008).

Farmaka byla analyzována pomocí LC-MS/MS. Získané extrakty byly odpařeny a znovu rozpuštěny v 2,5 ml methanolu v LC-MS čistotě. Hmotnost extraktu po odpaření a jeho hustota byla zjištěna stejným způsobem jako u ED. Z odebraného alikvotu se opět oddělila sraženina pomocí centrifugy. Následně byl alikvot přenesen do čisté vialy. Oproti LC-UV bylo ještě nutné provést ředění vzorků, kvůli vyšší citlivosti metody. Vzorky byly naředěny 100. K ředění byl použit methanol v LC-MS čistotě. Následně byly vzorky měřeny pomocí LC-MS/MS. Získané výsledky bylo nutné ještě přepočítat podle ředění a množství vzorku použitého k extrakci pomocí vzorce: $c_v = \frac{(100 \cdot m_n) \cdot c_s}{m_e}$, kde c_v značí výslednou koncentraci měřené látky, m_n hmotnost vzorku použitého při extrakci, c_s koncentraci změřenou LC-MS/MS a m_e hmotnost extraktu. Takto získané výsledky bylo ještě potřeba vynásobit koeficientem z analýzy nebiogenních kovů stejným způsobem jako u ED.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno stejným způsobem jako u ED. V grafu na obrázku 4 je opět znázornění statistických rozdílů mezi po sobě jdoucími dny pomocí písmen.

V grafu na obrázku 4 je zobrazena degradace mikropolutantů ze skupiny farmak. Výsledky byly získané zprůměrováním devíti paralel pro dny 3 a 42, ze šesti paralel pro 9 a 21 den a pro nultý den byly použity paralely tři. V grafu jsou znázorněny koncentrace dané látky v $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ pro daný odběr se směrodatnou odchylkou.

Největší pokles u většiny přítomných farmak nastal během 0. až 21. dne. KAR měl signifikantní rozdíl pouze mezi dny 0 a 3 kdy se rozložil z 43,8 %. Jeho degradace byla nejnižší ze sledovaných látek v kompostu S. V dalších dnech byl pozorován nepatrný pokles koncentrací, který však nebyl statisticky významný. Butkovskiy a kol. popisují KAR jako mikropolutant, který hůře podléhá aerobním biodegradacím, avšak ve svém experimentu dosáhli úbytku KAR o 87,8 % během 92 dní kompostování (Butkovskiy a pol., 2016).

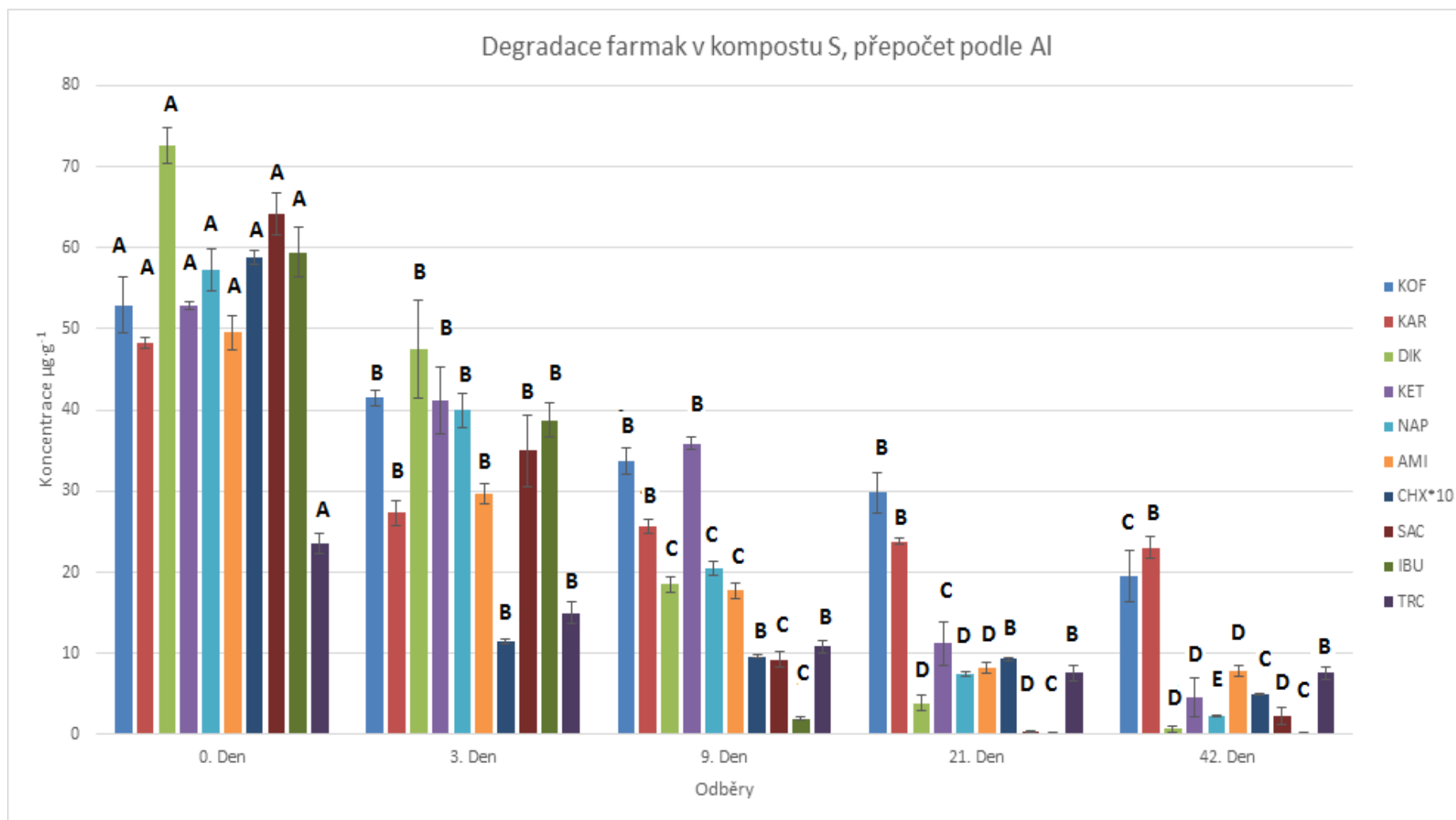
DIK se významně rozložil během termofilní fáze (z 74,5 %), kdy měl statisticky významné poklesy jak na počátku termofilní fáze, tak na jejím konci. Další degradace DIK proběhla během mezofilní fáze, kdy se oproti vstupní koncentraci rozložil z 94,7 %.

Podobných výsledků dosáhli Butkovskiy a kol. při termofilních i mezofilních teplotách během svého experimentu (Butkovskiy a kol., 2016). V jiném experimentu, který provedli Haiba a kol. se podařilo rozložit 98 % přítomného DIK během 30 dní kompostování, přičemž se DIK rozkládal nejrychleji během prvního týdne (Haiba a kol., 2017). Termofilní i mezofilní fázi lze považovat za účinnou při degradaci DIK, což potvrdila i statistická analýza.

V tomto experimentu bylo dosaženo podobných výsledků pro degradaci IBU, jakých dosáhli Butkovskiy a kol., kdy se jim podařilo rozložit IBU z 99,9 % během 92. dní kompostování. IBU se v jejich experimentu dobře rozkládal jak v termofilní teplotě, tak v mezofilní, přičemž vyšší míry degradace dosáhli během termofilní teploty (Butkovskiy a kol., 2016). V tomto experimentu proběhla většina rozkladu IBU v termofilní fázi, kdy se po 9 dnech kompostování rozložil z 96,8 %. Degradace v dalších dnech nebyla statisticky významná.

TRC se v tomto experimentu degradoval pouze na počátku termofilní fáze (z 46,8 %). Tento mikropolutant se rozkládal nejhůře po KAR, na jehož degradaci působil taktéž jen počátek termofilní fáze. Podobných výsledků dosáhli Zheng a kol. (2020) ve svém experimentu, kdy se jim podařilo rozložit TRC z 59,5 % během 17 dní kompostování. V jejich experimentu byla nejvyšší míra degradace během mezofilní fáze a na počátku termofilní fáze. V tomto experimentu neměla mezofilní fáze vliv na degradaci TRC. Butkovskiy a kol. a Haiba a kol. pozorovali transformaci TRC na methyltriclosan během kompostování, který podléhal hůře rozkladu nežli TRC (Butkovskiy a kol., 2016, Haiba a kol., 2017). V experimentu v rámci této práce nebyl methyltriclosan stanovován.

Degradaci KET, KOF, NAP, AMI, CHX a SAC nelze srovnat s jinými experimenty kvůli nedostatku publikací zabývajících se degradací těchto látek během kompostování. Tyto látky byly zvoleny, protože jsou detekovány běžně v kalech (Ivanová a kol., 2018, Jelic a kol., 2011, Subedi a kol., 2014, Östman a kol., 2017). KOF měl statisticky významný pokles během prvních třech dnů kompostování a mezi 21. a 42. dnu. Můžeme tedy říct, že se nejvýrazněji rozkládal na počátku termofilní fáze a další výraznější degradace proběhla až v maturační fázi, kdy se na konci kompostování rozložil z 62,9 %. KET se mírně degradoval na počátku termofilní fáze (mezi dny 0 a 3) a v maturační fázi (mezi dny 21 a 42), v mezofilní fázi se degradoval nejvíce (mezi dny 9 až 21). Po 42 dnech kompostování se rozložil z 91,4 %. NAP měl jako jediný signifikantní úbytek mezi všemi



OBRÁZEK 4: GRAF DEGRADACE FAMRAK V KOMPOSTU S

odběry, jeho degradace tedy probíhala ve všech fázích kompostování. Po 42 dnech kompostování se rozložil z 96,1 %. AMI se významně degradoval v termofilní (z 64,4 %) i v mezofilní fázi, kdy se po 21 dnech kompostování rozložil z 83,5 %. Pokles jeho koncentrací v maturační fázi nebyl statisticky významný.

CHX se nejvíce degradoval na počátku termofilní fáze (z 79,8 %), další statisticky významná degradace nastala až v maturační fázi, kdy se na konci kompostování rozložil z 91,4 %. SAC byl další mikropolutant, který se výrazně rozložil během termofilní fáze (z 85,7 %). Na konci mezofilní fáze nebyl detekován ve vzorcích, ale v 42. dni detekován byl, což mohlo být způsobeno chybou v měření.

6.1.2. Kompost F

Látky z kompostu F byly analyzovány pomocí LC-MS/MS. Získané extrakty byly zakonzentrovány odpařením na cca 15 ml, přesný objem byl zjištěn pomocí výpočtu: $V_e = \frac{m_e}{\rho_e}$, kde V_e značí objem extraktu, m_e hmotnost extraktu po odpaření a ρ_e hustotu extraktu. Hmotnost extraktu po odpaření a jeho hustota byla zjištěna stejným způsobem jako u kompostu S. Z odebraného alikvotu k analýze byla oddělena sraženina stejným způsobem jako u kompostu S. Dále bylo ještě nutné provést ředění vzorků. K ředění byl použit methanol v LC-MS čistotě. Vzorky byly naředěny 10krát a následně měřeny pomocí LC-MS/MS. Výsledky bylo nutné přepočítat podle ředění a množství vzorku použitého k extrakci pomocí vzorce: $c_v = \frac{(10 \cdot m_n) \cdot c_s}{m_e}$, kde c_v značí výslednou koncentraci měřené látky, m_n hmotnost vzorku použitého při extrakci, c_s koncentraci změřenou LC-MS/MS a m_e hmotnost extraktu. Takto získaná data bylo ještě potřeba vynásobit pomocí koeficientu získaného analýzou nebiogenních kovů (Al). Získaná data bylo nutné rozdělit do dvou grafů, kvůli tomu, že se koncentrace jednotlivých látek velmi lišily. Jelikož se jednalo o reálný vzorek a vstupní koncentrace mikropolutantů se řádově lišily, byly látky rozděleny do dvou skupin, aby je bylo možné lépe zobrazit v grafickém znázornění.

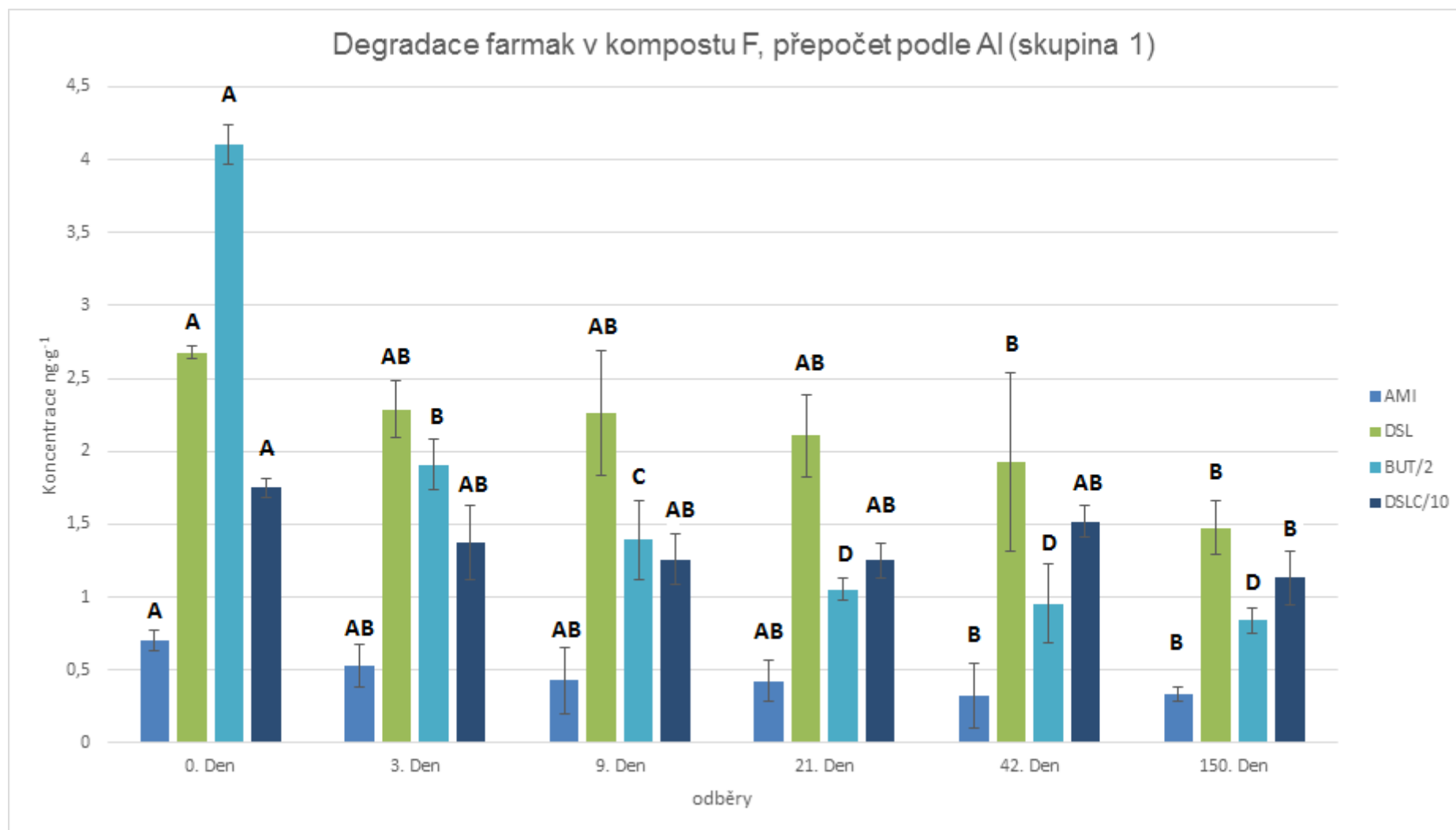
Na obrázku 5 lze vidět degradaci první skupiny látek (AMI, DSL a BUT) během 150 dní kompostování. Výsledky byly získané u 0. dne zprůměrováním 3 paralel, u 3. až 150. dne zprůměrováním 12 paralel. V grafu jsou uvedeny koncentrace sledovaných látek v jednotkách $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ se směrodatnou odchylkou, pro každý odběr. Statistické zpracování dat bylo provedeno stejným způsobem jako u kompostu S. V grafu na obrázku 5 je znázorněna statistická odlišnost pomocí písmen. Když se koncentrace látky v daném

odběru lišila změnilo se písmeno. Dvojicí písmen jsou označeny po sobě jdoucí odběry, které se nelišily.

V druhém experimentu proběhla degradace pouze u první skupiny látek (AMI, BUT, DSL a DSLC), v druhé skupině nebyla pozorována degradace u žádné látky. V tomto experimentu byl proveden navíc odběr v 150. dni, kvůli sledování vlivu delšího časového horizontu na degradaci látek během kompostování. Pro tyto látky opět neexistuje žádné srovnání s literaturou.

AMI se oproti prvnímu experimentu výrazně nedegradoval v žádných po sobě jdoucích odběrech. Signifikantní rozdíl v jeho koncentracích byl patrný až mezi 0. a 42. dnem a 0. a 150 dnem, kdy se po 150 dnech rozložilo 52,5 % přítomného AMI. Oproti prvnímu experimentu však musíme vzít v úvahu jeho o několik řádů nižší vstupní koncentraci i to, že se jednalo o jiný kal. Vliv koncentrací na degradaci mikropolutantů během kompostování je patrná i v člancích od Khadra a kol. a Zhang a kol. V experimentu Zhanga kol. se pracovalo s vyššími koncentracemi fluorochinolonů a bylo dosaženo lepších výsledků, nežli v experimentu Khadry a kol., kdy se fluorochinolony při nízkých koncentracích nedegradovaly. Rozdílné výsledky mohly být způsobeny tím, že malé koncentrace mikropolutantů nemusí být biologicky dostupné pro mikroorganismy, díky různým vazbám s matricí (Khadra a spol., 2019, Zhang a spol., 2019).

BUT měl jako jediný v kompostu F signifikantní rozdíly mezi po sobě jdoucími dny, konkrétně lze pozorovat degradaci v termofilní i mezofilní fázi. Na konci termofilní fáze se BUT rozložil z 66,1 %, na konci mezofilní fáze se rozložil z 74,3 % oproti vstupním hodnotám. U DSL byl signifikantní rozdíl pouze mezi 0. a 42. dnem a 0. a 150. dnem, nelze tudíž určit, ve které fázi byla nejúčinnější jeho degradace. U DSLC nastal signifikantní rozdíl pouze mezi dnem 0 a 150, tudíž nelze určit fázi, ve které probíhala degradace. Delší časový horizont kompostování mezi 42. a 150. dnem neměl na degradaci AMI, BUT a DSL v kompostu F vliv. Signifikantní rozdíl mezi 0. 150. dnem se potvrdil pouze u DSLC.



OBRÁZEK 5: GRAF DEGRADACE Z 1. SKUPINY LÁTEK V KOMPOSTU F

6.2. Analýza PLFA

Analýza fosfolipidických mastných kyselin slouží k charakterizaci mikroorganismů přítomných ve vzorku. Fosfolipidické mastné kyseliny jsou přítomny v buněčných stěnách živých mikroorganismů, a po smrti mikroorganismu se rychle rozkládají. Podle výskytu jednotlivých mastných kyselin lze zjistit výskyt sledovaných skupin mikroorganismů ve vzorku.

Tabulka 4 ukazuje hodnoty se směrodatnou odchylkou pro jednotlivé skupiny mikroorganismů v kompostu S. Hodnoty pro kal a den 0 byly spočítány ze tří paralel, hodnoty pro den 3 a 42 z devíti paralel a pro den 9 a 21. z šesti paralel. U všech sledovaných skupin mikroorganismů došlo k nárůstu hodnot po smíchání substrátu s kalem v 0. den kompostování. Hodnoty u hub postupně klesaly až do 21. dne, mezi 21. a 42. dnem narostly. Bakterie vykazovaly během kompostování pokles až do 21. dne, mezi 21. a 42 dnem se jejich hodnoty opět zvýšily. U aktinobakterií je pozorován celkový nárůst po 42 dnech, kdy jejich hodnoty rostly v každém po sobě jdoucím odběru. Největší nárůst můžeme pozorovat mezi 21. a 42. dni. G+ bakterie vykazovaly nárůst až do 9. dne kompostování, v 21. dni se jejich hodnoty snížily, ale v 42. dni opět narostly. Hodnoty G+ bakterií byly na konci kompostování vyšší, než na začátku kompostování. G- bakterie vykazovaly pokles až do 21. dne, v 42. dni opět vykazovaly nárůst. Jejich hodnoty v 42. dni však nebyly vyšší než na počátku kompostování. Celková biomasa mikroorganismů se po 42. dnech kompostování snížila.

TABULKA 4: HODNOTY JEDNOTLIVÝCH SKUPIN MIKROORGANISMŮ V KOMPOSTU S

PLFA kompost S [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	Kal	Den 0	Den 3	Den 9	Den 21	Den 42
houby	12,5 $\pm 0,8$	22,8 $\pm 3,1$	22,9 $\pm 3,6$	14,5 $\pm 2,6$	7,3 $\pm 1,2$	11,5 $\pm 3,2$
bakterie	167,5 $\pm 8,4$	256,2 $\pm 10,5$	207,3 $\pm 40,1$	188,5 $\pm 32,1$	124,7 $\pm 25,6$	225,0 $\pm 61,3$
aktinobakterie	8,3 $\pm 0,5$	9,3 $\pm 0,7$	9,8 $\pm 1,3$	15,4 $\pm 3,1$	16,1 $\pm 2,4$	27,3 $\pm 3,5$
G+ bakterie	38,1 $\pm 2,8$	112,0 $\pm 9,1$	131,8 $\pm 29,4$	131,1 $\pm 23,8$	78,4 $\pm 18,9$	121,1 $\pm 35,5$
G- bakterie	112,3 $\pm 4,9$	122,6 $\pm 8,3$	54,4 $\pm 9,9$	25,0 $\pm 2,5$	22,3 $\pm 4,4$	67,3 $\pm 24,1$
celková biomasa mikroorganismů	294,0 $\pm 13,6$	411,8 $\pm 14,6$	331,4 \pm	269,9 $\pm 41,1$	180,8 $\pm 31,5$	316,7 $\pm 66,4$

Hodnoty jednotlivých skupin mikroorganismů v kompostu F se směrodatnou odchylkou jsou uvedeny v tabulce 5. Hodnoty pro Kal a den 0 byly spočítány jako průměr ze 3 paralel, hodnoty pro den 3 až 150 z 12 paralel. Oproti kompostu S došlo k výraznému poklesu už během smíchání kalu F se substrátem v den založení kompostu. Je však nutné říci, že vstupní hodnoty v kalu F byly mnohonásobně vyšší nežli v kalu S. Celková biomasa mikroorganismů výrazně poklesla během prvních 9 dnů kompostování, hodnoty dále klesaly až do 42. dne. Mezi 42. a 150. dnem hodnoty celkové biomasy narostly, nebyly však vyšší než na začátku kompostování. Hodnoty u hub klesaly až do 42. dne kompostování. Nárůst můžeme pozorovat mezi 42. a 150. dnem, kdy po 150 dnech kompostování jsou hodnoty vyšší nežli na počátku kompostování. Hodnoty G+ a G- bakterií klesaly až do 42. dne kompostování, mezi 42. a 150. dnem narostly.

TABULKA 5: HODNOTY JEDNOTLIVÝCH SKUPIN MIKROORGANISMŮ V KOMPOSTU S

PLFA kompost F [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	Kal	Den 0	Den 3	Den 9	Den 21	Den 42	Den 150
houby	5,24 $\pm 0,3$	17,90 $\pm 6,5$	8,29 $\pm 2,7$	5,67 $\pm 1,3$	4,40 $\pm 0,7$	3,66 $\pm 0,4$	24,35 $\pm 8,7$
bakterie	4141 ± 159	1411 ± 532	394,8 ± 113	226,4 $\pm 67,8$	185,9 $\pm 26,9$	176,8 $\pm 41,3$	192,8 $\pm 52,2$
aktinobakterie	4,53 $\pm 0,1$	4,95 $\pm 1,8$	2,18 $\pm 0,6$	1,42 $\pm 0,3$	1,00 $\pm 0,1$	0,99 $\pm 0,2$	1,64 $\pm 0,9$
G+ bakterie	146,2 $\pm 8,2$	152,1 $\pm 54,7$	130,8 $\pm 47,6$	109,5 $\pm 38,2$	91,70 $\pm 22,8$	88,61 $\pm 26,7$	92,45 $\pm 28,4$
G- bakterie	3963 ± 151	1238 ± 470	251,4 $\pm 71,2$	109,4 $\pm 31,2$	85,97 $\pm 12,0$	78,57 $\pm 15,6$	92,78 $\pm 26,1$
celková biomasa mikroorganismů	4957 ± 176	1709 ± 641	489,3 ± 138	281,0 $\pm 81,5$	238,9 $\pm 30,4$	222,5 $\pm 48,8$	272,0 $\pm 59,0$

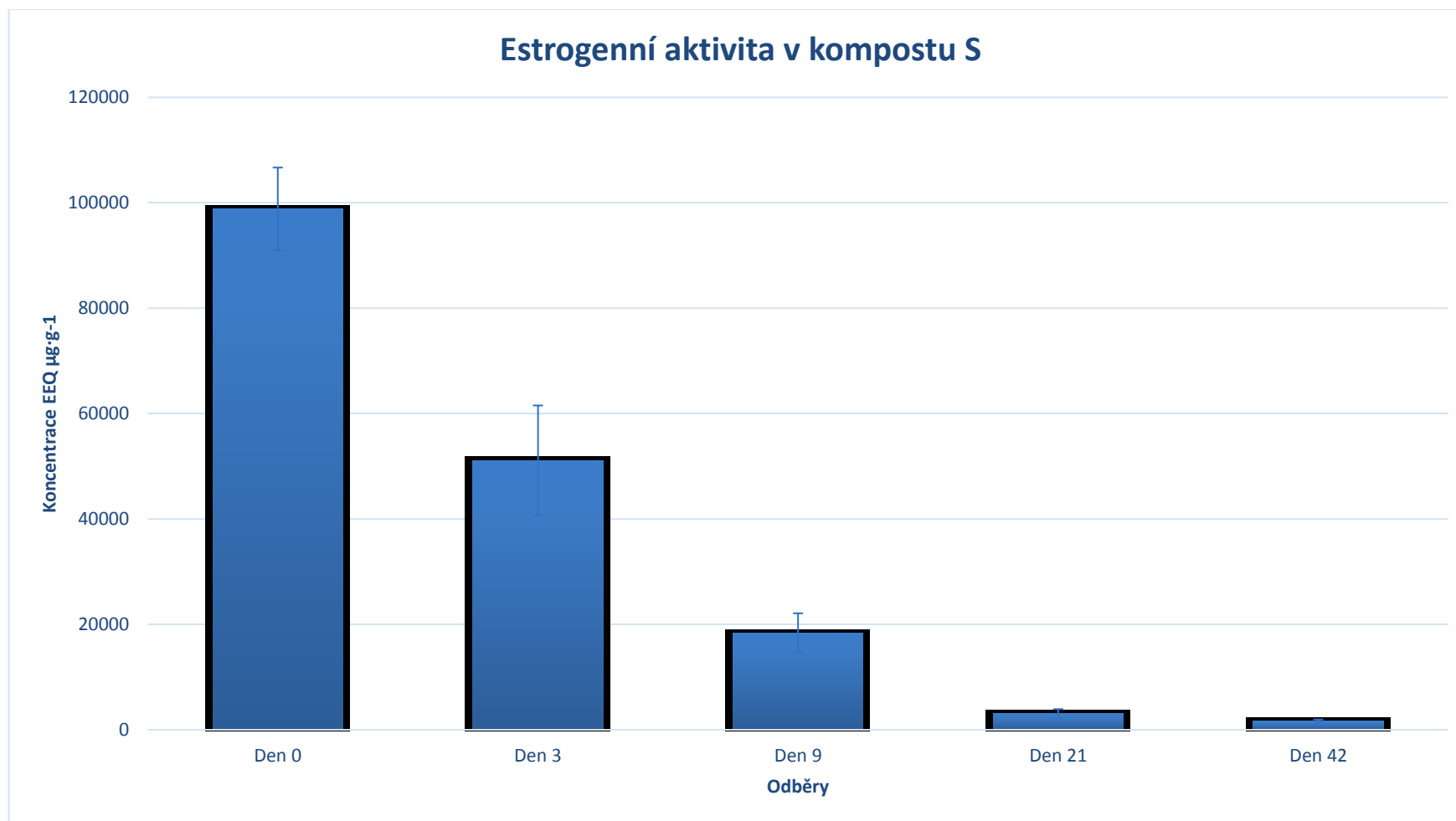
Rozdílné počáteční hodnoty mezi kompostem F a S by mohly být způsobeny tím, že kal S byl déle skladován před kompostováním. Dále počáteční hodnoty mohlo také ovlivnit přidání roztoku acetonu s mikropolutanty do kalu S, při umělém kontaminování tohoto kalu. Vývoj v kompostu F ukazuje na výrazný pokles všech skupin mikroorganismů během termofilní fáze. Tento jev zmiňuje i Fogarty a kol. a Lee (Fogarty a spol., 1991, Lee, 2016). To, že většina degradace proběhla v této fázi, může značit, že mohly klesat hodnoty skupin mikroorganismů, nepodílejících se na rozkladu mikroorganismů (patogeny apod.). V kompostu S je možné díky nízkým vstupním hodnotám sledovat nárůst hodnot aktinobakterií a G+ bakterií v termofilní fázi. Tyto skupiny bakterií se nejspíše podílely na degradaci v termofilní fázi. Celková biomasa mikroorganismů nebyla vyšší než na počátku kompostování, nicméně se skládá z jiných skupin mikroorganismů než na počátku kompostování. Výsledky analýzy PLFA značí, že tato analýza není vždy vhodnou metodou pro popsání vývoje při kompostování kalu, kvůli vysokým vstupním hodnotám mikroorganismů v kalu. Při dalším výzkumu v této oblasti by mohla být vhodnější analýza DNA, která by lépe popsala vývoj mikroorganismů v kompostu.

6.3. Měření estrogení aktivity β -galaktozidázovým testem

Měření estrogení aktivity bylo prováděno pouze na vzorcích kompostu S, protože v ostatních vzorcích nebyly přítomné významné koncentrace estrogeních ED. Na obrázku 6 je znázorněna estrogení aktivita v kompostu S během 42 dní kompostování.

Estradiol ekvivalent (EEQ) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ je jednotka, ve které je estrogenní aktivita zobrazena. Výsledky byly získané zprůměrováním devíti paralel pro dny 3 a 42, ze šesti paralel pro 9 a 21 den a pro nultý den byly použity paralely tři. V grafu jsou uvedeny hodnoty EEQ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ se směrodatnou odchylkou.

Měření estrogenní aktivity potvrdilo velkou míru degradace ED během 42. dní kompostování. Termofilní fáze se ukázala jako nejúčinnější pro snížení estrogenní aktivity. Během této fáze se hodny EEQ snížily o 81,4 % oproti vstupním hodnotám, což odpovídá degradaci většiny přítomných ED. Estrogenní aktivita v 9. dni je způsobena zbytky BPA a EE2, které se rozložily během mezofilní fáze, což kopíruje i pokles EEQ mezi 9. a 21. dnem. Cajthaml a kol. (2009) uvádí, že metabolity vzniklé aerobní degradací ED mohou vykazovat estrogenní aktivitu. Tudíž i když se přítomné estrogenní ED degradovaly, může být estrogenní aktivita stejná nebo dokonce vyšší nežli na počátku aerobní biodegradace. Tento trend se v tomto experimentu nepotvrdil. Nižší estrogenní aktivitu metabolitů BPA, vzniklých biodegradacemi pozorovali Ike a kol. (2002). Snížení estrogenní aktivity během biodegradace DBP pozorovali i Lee a kol., (2004). V tomto experimentu se nepotvrdila produkce estrogenních metabolitů. Na konci kompostování se EEQ snížilo o 98,3 %, kdy většina ze zkoumaných ED nebyla přítomna ve vzorcích.



OBRÁZEK 6 GRAF VÝVOJE ESTROGENNÍ AKTIVITY V KOMPOST

7. ZÁVĚR

Kompostování se ukázalo jako účinná bioremediační metoda, pro odstraňování většiny zkoumaných mikropolutantů z pevných matric. Tato diplomová práce byla zaměřena na zkoumání míry degradace mikropolutantů obsažených v čistírenském kalu, které představují reálné riziko pro životní prostředí. Byly provedeny dva degradační experimenty v 3 litrových reaktorech, kde se kompostoval kal se substrátem za kontrolovaných podmínek.

Kompostování se ukázalo jako vhodná metoda pro degradaci ED přítomných v kalu. ED se během 42 dní kompostování rozložily s účinností až 100 %. Největší úbytek v koncentracích byl pro tyto látky pozorován během termofilní fáze kompostování, proto by termofilní fáze neměla být opomenuta při kompostování v kontrolovaných podmínkách. Jelikož se některé látky zcela rozložily už během této fáze, nebylo možné studovat u těchto látek míru degradace v dalších fázích kompostování. U EE2 a BPA se na degradaci podílela kromě termofilní fáze i fáze mezofilní. Degradaci ED kopírovalo i snižování estrogenní aktivity během kompostování.

Farmaka v kompostu S vykazovala různou míru degradace během kompostování. Nejúčinnější byla opět termofilní fáze, nicméně oproti ED se na degradaci výrazně podílela i mezofilní a maturační fáze. Celkově se kompostování ukázalo jako vhodná metoda pro biodegradaci vysokých koncentrací běžně přítomných mikropolutantů v kalu.

Horších výsledků bylo dosaženo u kompostu F, kde se nacházely mikropolutanty z průmyslové výroby léčiv. Degradovaly se jen některé látky z první skupiny, ve druhé skupině látek degradace nebyla pozorována.

Analýza PLFA se neprokázala jako vhodnou metodou pro popsání vývoje mikroorganismů při kompostování kalu.

8. POUŽITÁ LITERATURA

- ADOLFSSON-ERICI, Margaretha, Maria PETTERSSON, Jari PARKKONEN a Joachim STURVE. Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden. *Chemosphere*. 2002, **46**(9-10), 1485-1489. DOI: 10.1016/S0045-6535(01)00255-7. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653501002557>
- AEMIG, Quentin, Nicolas DOUSSIET, Alice DANIEL, Nadine DELGENÈS, Julie JIMENEZ, Sabine HOUOT a Dominique PATUREAU. Organic micropollutants' distribution within sludge organic matter fractions explains their dynamic during sewage sludge anaerobic digestion followed by composting. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019, **26**(6), 5820-5830. DOI: 10.1007/s11356-018-4014-7. ISSN 0944-1344. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-018-4014-7>
- ANTIZAR-LADISLAO, Blanca, Joe LOPEZ-REAL a Angus J. BECK. In-vessel composting–bioremediation of aged coal tar soil: effect of temperature and soil/green waste amendment ratio. *Environment International*. 2005, **31**(2), 173-178. DOI: 10.1016/j.envint.2004.09.012. ISSN 01604120. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016041200400162X>
- ANTIZAR-LADISLAO, Blanca, Joe LOPEZ-REAL, Angus James BECK, Nadine DELGENÈS, Julie JIMENEZ, Sabine HOUOT a Dominique PATUREAU. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in an aged coal-tar-contaminated soil using different in-vessel composting approaches. *Journal of Hazardous Materials*. 2006, **137**(3), 1583-1588. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2006.04.056. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389406004596>
- APARICIO, I., J.L. SANTOS, E. ALONSO, Armin HAUKE, William S. ECKHOFF a Virginia CUNNINGHAM. Limitation of the concentration of organic pollutants in sewage sludge for agricultural purposes: A case study in South Spain. *Waste Management*. 2009, **29**(5), 1747-1753. DOI: 10.1016/j.wasman.2008.11.003. ISSN 0956053X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X08003929>

- APARICIO, I., J.L. SANTOS, E. ALONSO, Armin HAUKE, William S. ECKHOFF a Virginia CUNNINGHAM. Limitation of the concentration of organic pollutants in sewage sludge for agricultural purposes: A case study in South Spain. *Waste Management*. 2009, **29**(5), 1747-1753. DOI: 10.1016/j.wasman.2008.11.003. ISSN 0956053X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X08003929>
- ARIS, Ahmad Zaharin, Aida Soraya SHAMSUDDIN a Sarva Mangala PRAVEENA. Occurrence of 17 α -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review. *Environment International*. 2014, **69**, 104-119. DOI: 10.1016/j.envint.2014.04.011. ISSN 01604120. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412014001226>
- AURIOL, Muriel, Youssef FILALI-MEKNASSI, Rajeshwar D. TYAGI, Craig D. ADAMS, Rao Y. SURAMPALLI, Sabine HOUOT a Dominique PATUREAU. Endocrine disrupting compounds removal from wastewater, a new challenge. *Process Biochemistry*. 2006, **41**(3), 525-539. DOI: 10.1016/j.procbio.2005.09.017. ISSN 13595113. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359511305004162>
- BEN, Weiwei, Bing ZHU, Xiangjuan YUAN, Yu ZHANG, Min YANG, Zhimin QIANG a Dominique PATUREAU. Transformation and fate of natural estrogens and their conjugates in wastewater treatment plants: Influence of operational parameters and removal pathways. *Water Research*. 2017, **124**(3), 244-250. DOI: 10.1016/j.watres.2017.07.065. ISSN 00431354. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135417306383>
- BESTER, K., Bert SCHATOWITZ, Martin JACOB, Armin HAUKE, William S. ECKHOFF a Virginia CUNNINGHAM. Triclosan in a sewage treatment process—balances and monitoring data. *Water Research*. 2003, **37**(16), 3891-3896. DOI: 10.1016/S0043-1354(03)00335-X. ISSN 00431354. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004313540300335X>
- BOXALL, Alistair B.A., Murray A. RUDD, Bryan W. BROOKS, et al. Transformation and fate of natural estrogens and their conjugates in wastewater treatment plants: Influence of operational parameters and removal pathways. *Environmental Health*

Perspectives. 2012, **120**(9), 244-250. DOI: 10.1289/ehp.1104477. ISSN 0091-6765.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135417306383>

BRAGA, Olga, George A. SMYTHE, Andrea I. SCHÄFER, et al. Fate of Steroid Estrogens in Australian Inland and Coastal Wastewater Treatment Plants. *Chemosphere*. 2005, **39**(9), 3351-3358. DOI: 10.1021/es0501767. ISSN 0013-936X. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es0501767>

BRAUSCH, John M., Gary M. RAND, Martin JACOB, et al. A review of personal care products in the aquatic environment: Environmental concentrations and toxicity. *Chemosphere*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2011, **82**(11), 1518-1532. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2010.11.018. ISBN 978-1-78262-189-8. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653510013007>

BRODIN, T., J. FICK, M. JONSSON, J. KLAMINDER, Hong-Zhong ZHANG, Dana W. KOLPIN, Alfred M. DUFTY a Chad A. KINNEY. Dilute Concentrations of a Psychiatric Drug Alter Behavior of Fish from Natural Populations: Enzyme activity, bacterial and fungal community succession. *Science*. 2013, **339**(6121), 814-815. DOI: 10.1126/science.1226850. ISSN 0036-8075. Dostupné také z: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1226850>

BUTKOVSKYI, A., G. NI, L. HERNANDEZ LEAL, et al. Mitigation of micropollutants for black water application in agriculture via composting of anaerobic sludge: What Are the Big Questions? *Journal of Hazardous Materials*. 2016, **303**(9), 41-47. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.10.016. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389415301436>

CAJTHAML, Tomáš, Zdena KŘESINOVÁ, Kateřina SVOBODOVÁ a Monika MÖDER. Biodegradation of endocrine-disrupting compounds and suppression of estrogenic activity by ligninolytic fungi. *Chemosphere*. 2009, **75**(6), 745-750. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.01.034. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653509000733>

CALDWELL, Daniel J. Sources of Pharmaceutical Residues in the Environment and their Control. *Pharmaceuticals in the Environment*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2015, , 92-119. Issues in Environmental Science and Technology. DOI:

10.1039/9781782622345-00092. ISBN 978-1-78262-189-8. Dostupné také z: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781782622345-00092>

CALISTO, Vânia, Valdemar I. ESTEVES, M. JONSSON, J. KLAMINDER, Hong-Zhong ZHANG, Dana W. KOLPIN, Alfred M. DUFTY a Chad A. KINNEY. Psychiatric pharmaceuticals in the environment: Enzyme activity, bacterial and fungal community succession. *Chemosphere*. 2009, **77**(10), 1257-1274. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.09.021. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653509010832>

CARBONELL, G., J. PRO, N. GÓMEZ, M.M. BABÍN, C. FERNÁNDEZ, E. ALONSO a J.V. TARAZONA. Sewage sludge applied to agricultural soil: Ecotoxicological effects on representative soil organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2009, **72**(4), 1309-1319. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2009.01.007. ISSN 01476513. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651309000244>

CIEŚLIK, Bartłomiej Michał, Jacek NAMIEŚNIK a Piotr KONIECZKA. Review of sewage sludge management: standards, regulations and analytical methods. *Journal of Cleaner Production*. 2015, **90**(11), 1-15. DOI: 10.1016/j.jclepro.2014.11.031. ISSN 09596526. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959652614012116>

ÇIFCI, Deniz İ., Cumali KINACI, Osman A. ARIKAN, Hao GONG, Fang FANG, Chunyang LIAO a Guibin JIANG. Occurrence of Phthalates in Sewage Sludge from Three Wastewater Treatment Plants in Istanbul, Turkey: A literature review. *CLEAN - Soil, Air, Water*. 2013, **41**(9), 851-855. DOI: 10.1002/clen.201200212. ISSN 18630650. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/clen.201200212>

CUCINA, Mirko, Claudia ZADRA, Maria Carla MARCOTULLIO, et al. Recovery of energy and plant nutrients from a pharmaceutical organic waste derived from a fermentative biomass: Integration of anaerobic digestion and composting. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2017, **5**(3), 3051-3057. DOI: 10.1016/j.jece.2017.06.003. ISSN 22133437. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213343717302543>

Český statistický úřad: Vodovody, kanalizace a vodní toky - 2018. ČZSO [online]. 2019 [cit. 2019-12-16]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/vodovody-kanalizace-a-vodni-toky-2018>

DANG, ZhiChao, Claudia ZADRA, Maria Carla MARCOTULLIO, et al. Comparison of relative binding affinities to fish and mammalian estrogen receptors: The regulatory implications. *Toxicology Letters*. 2010, **192**(3), 298-315. DOI: 10.1016/j.toxlet.2009.11.004. ISSN 03784274. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037842740901501X>

DONATELLO, Shane a Christopher R. CHEESEMAM. Recycling and recovery routes for incinerated sewage sludge ash (ISSA): A review. *Waste Management*. 2013, **33**(11), 2328-2340. DOI: 10.1016/j.wasman.2013.05.024. ISSN 0956053X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X13002559>

DOUGHERTY, Jennifer A., Peter W. SWARZENSKI, Richard S. DINICOLA, Martin REINHARD, Piotr STEPNOWSKI a Chang-Ping YU. Occurrence of Herbicides and Pharmaceutical and Personal Care Products in Surface Water and Groundwater around Liberty Bay, Puget Sound, Washington. *Journal of Environment Quality*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2010, **39**(4), 46-61. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.2134/jeq2009.0189. ISBN 978-1-78262-189-8. ISSN 1537-2537. Dostupné také z: <https://www.agronomy.org/publications/jeq/abstracts/39/4/1173>

DUMONTET, S., H. DINEL a S. B. BALODA. *Pathogen Reduction in Sewage Sludge by Composting and Other Biological Treatments: A Review*. 1999, **16**(4), 409-430. DOI: 10.1080/01448765.1999.9755243. ISSN 0144-8765. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01448765.1999.9755243>

Environmental Protection Agency: Primer for Municipal Wastewater Treatment Systems. *EPA* [online]. 2004 [cit. 2019-11-12]. Dostupné z: https://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/definitions/endodis_en.htm

European chemical agency: Bisfenol A. *ECHA* [online]. 2019 [cit. 2019-12-13]. Dostupné z: <https://echa.europa.eu/cs/hot-topics/bisphenol-a>

- European chemical agency: Nonylphenol. *ECHA* [online]. 2019 [cit. 2019-11-06].
Dostupné z: <https://echa.europa.eu/cs/substance-information/-/substanceinfo/100.042.414>
- Evropská komise: Technical guidance document on Risk Assessment. *Echa.europa* [online]. 2003 [cit. 2019-12-13]. Dostupné z: https://echa.europa.eu/documents/10162/16960216/tgdpart2_2ed_en.pdf
- Evropská komise: What are endocrine disruptors? *Ec.europa* [online]. 2019 [cit. 2019-11-12]. Dostupné z: https://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/definitions/endodis_en.htm
- EZZARIAI, Amine, Mohamed HAFIDI, Ahmed KHADRA, et al. Human and veterinary antibiotics during composting of sludge or manure: Global perspectives on persistence, degradation, and resistance genes. *Journal of Hazardous Materials*. 2018, **359**(4), 465-481. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2018.07.092. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389418306459>
- FANG, Wen, Yonghong WEI, Jianguo LIU, Jennifer S. FORBEY, Edward T. FURLONG, Dana W. KOLPIN, Alfred M. DUFTY a Chad A. KINNEY. Comparative characterization of sewage sludge compost and soil: Heavy metal leaching characteristics. *Journal of Hazardous Materials*. 2016, **310**(24), 1-10. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.02.025. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389416301443>
- FENNER, Kathrin, Martin SCHERINGER, Matthew MACLEOD, et al. Comparing Estimates of Persistence and Long-Range Transport Potential among Multimedia Models: Global perspectives on persistence, degradation, and resistance genes. *Journal of Hazardous Materials*. 2005, **39**(7), 1932-1942. DOI: 10.1021/es048917b. ISSN 0013-936X. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es048917b>
- FENT, K, A WESTON a D CAMINADA. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*. 2006, **76**(2), 122-159. DOI: 10.1016/j.aquatox.2005.09.009. ISSN 0166445X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166445X05003267>

- FIJALKOWSKI, Krzysztof, Agnieszka RORAT, Anna GROBELAK, et al. The presence of contaminations in sewage sludge – The current situation: Global perspectives on persistence, degradation, and resistance genes. *Journal of Environmental Management*. 2017, **203**(7), 1126-1136. DOI: 10.1016/j.jenvman.2017.05.068. ISSN 03014797. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301479717305418>
- FIJALKOWSKI, Krzysztof. Emerging contaminants in sludge (endocrine disruptors, pesticides, and pharmaceutical residues, including illicit drugs/controlled substances, etc.). *Industrial and Municipal Sludge*. Elsevier, 2019, 2019, , 455-473. DOI: 10.1016/B978-0-12-815907-1.00020-9. ISBN 9780128159071. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128159071000209>
- FOGARTY, Andrew M. a Olli H. TUOVINEN. Microbiological Degradation of Pesticides in Yard Waste Composting. *MICROBIOLOGICAL REVIEWS*,. 1991, **55**(2), 225-233.
- FROMME, Hermann, Thomas KÜCHLER, Thomas OTTO, Konstanze PILZ, Josef MÜLLER a Andrea WENZEL. Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment: A literature review. *Water Research*. 2002, **36**(6), 1429-1438. DOI: 10.1016/S0043-1354(01)00367-0. ISSN 00431354. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135401003670>
- FURNESS, D. T., L. A. HOGGETT, S. J. JUDD, et al. Thermochemical Treatment of Sewage Sludge. *Water and Environment Journal*. 2000, **14**(1), 57-65. DOI: 10.1111/j.1747-6593.2000.tb00227.x. ISSN 1747-6585. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1747-6593.2000.tb00227.x>
- GAO, Dawen, Zhe LI, Junxue GUAN a Hong LIANG. Seasonal variations in the concentration and removal of nonylphenol ethoxylates from the wastewater of a sewage treatment plant. *Journal of Environmental Sciences*. 2017, **54**, 217-223. DOI: 10.1016/j.jes.2016.02.005. ISSN 10010742. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1001074216300122>
- GÖBEL, Anke, Angela THOMSEN, Christa S. MCARDELL, Alfredo C. ALDER, Walter GIGER, Nicole THEIß, Dirk LÖFFLER a Thomas A. TERNES. Extraction and determination of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in sewage

sludge. *Journal of Chromatography A*. 2005, **1085**(2), 179-189. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.05.051. ISSN 00219673. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967305010861>

GOGOI, Anindita, Payal MAZUMDER, Vinay Kumar TYAGI, G.G. TUSHARA CHAMINDA, Alicia Kyoungjin AN a Manish KUMAR. Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundwater for Sustainable Development*. Elsevier, 2018, 2019, **6**, 169-180. DOI: 10.1016/j.gsd.2017.12.009. ISBN 9780128159071. ISSN 2352801X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352801X17302217>

GONZÁLEZ, M.M., J. MARTÍN, J.L. SANTOS, I. APARICIO a E. ALONSO. Occurrence and risk assessment of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in sewage sludge from different conventional treatment processes. *Science of The Total Environment*. 2010, **408**(3), 563-570. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2009.10.027. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004896970900970X>

GUERRA, P., M. KIM, S. TESLIC, M. ALAEE, S.A. SMYTH, Rolf U. HALDEN a Kurunthachalam KANNAN. Bisphenol-A removal in various wastewater treatment processes: Operational conditions, mass balance, and optimization. *Journal of Environmental Management*. 2015, **152**, 192-200. DOI: 10.1016/j.jenvman.2015.01.044. ISSN 03014797. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301479715000602>

HAIBA, Egge, Lembit NEI, Sander KUTTI, et al. Degradation of diclofenac and triclosan residues in sewage sludge compost. *Agronomy Research* [online]. 2017, 2017, 15(2), 395-405 [cit. 2019-07-25]. ISSN 1406-894X. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/317623796_Degradation_of_diclofenac_and_triclosan_residues_in_sewage_sludge_compost

HARRISON, Ellen Z., Summer Rayne OAKES, Matthew HYSELL a Anthony HAY. Organic chemicals in sewage sludges. *Science of The Total Environment*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2006, **367**(2-3), 481-497. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2006.04.002.

ISBN 978-1-78262-189-8. ISSN 00489697. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969706002907>

HÉLIÈS-TOUSSAINT, Cécile, Ludovic PEYRE, Claudia COSTANZO, Marie-Christine CHAGNON, Roger RAHMANI, Sylvie BARCELLINI, Marie-Christine CHAGNON a Roger RAHMANI. Is bisphenol S a safe substitute for bisphenol A in terms of metabolic function? An in vitro study: A focus on their potential involvement in nonalcoholic fatty liver disease. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2014, **280**(2), 224-235. DOI: 10.1016/j.taap.2014.07.025. ISSN 0041008X. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041008X14002919>

HERNANDO, M, M MEZCUA, A FERNANDEZALBA, D BARCELO, Alicia Kyoungjin AN a Manish KUMAR. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments: A review. *Talanta*. Elsevier, 2006, 2019, **69**(2), 334-342. DOI: 10.1016/j.talanta.2005.09.037. ISBN 9780128159071. ISSN 00399140. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914005006594>

HO, Yu Bin, Mohamad Pauzi ZAKARIA, Puziah Abdul LATIF, Nazamid SAARI, Alicia Kyoungjin AN a Manish KUMAR. Degradation of veterinary antibiotics and hormone during broiler manure composting: A review. *Bioresource Technology*. Elsevier, 2013, 2019, **131**(2), 476-484. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.12.194. ISBN 9780128159071. ISSN 09608524. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852413000230>

HOEGER, Birgit, Bernd KÖLLNER, Daniel R. DIETRICH, et al. Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta* f. *fario*): Synthetic estrogens alter life-history and demographic structures of aquatic invertebrates. *Aquatic Toxicology*. 2005, **75**(1), 53-64. DOI: 10.1016/j.aquatox.2005.07.006. ISSN 0166445X. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166445X05002250>

HOFMAN, Klára VLČKOVÁ a Lucie BIELSKÁ. *Význam biodostupnosti při působení kontaminantů na půdní organismy a v hodnocení ekologických rizik* [online prezentace]. [cit. 2019-07-23]. Dostupné z:

http://www.ekomonitor.cz/sites/default/files/file/seminare/2011-03-23/prezentace/11_Hofman.pdf

HÖRSING, Maritha, Anna LEDIN, Roman GRABIC, et al. Determination of sorption of seventy-five pharmaceuticals in sewage sludge: Synthetic estrogens alter life-history and demographic structures of aquatic invertebrates. *Water Research*. 2011, **45**(15), 4470-4482. DOI: 10.1016/j.watres.2011.05.033. ISSN 00431354. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004313541100306X>

HUANG, Jing-Jing, Hong-Ying HU, Fang TANG, Yi LI, Sun-Qin LU a Yun LU. Inactivation and reactivation of antibiotic-resistant bacteria by chlorination in secondary effluents of a municipal wastewater treatment plant: A review. *Water Research*. Elsevier, 2011, 2019, **45**(9), 2775-2781. DOI: 10.1016/j.watres.2011.02.026. ISBN 9780128159071. ISSN 00431354. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135411000935>

HUANG, Yang, Jinsong GUO, Peng YAN, Hao GONG, Fang FANG, Chunyang LIAO a Guibin JIANG. Sorption-desorption behavior of sulfamethoxazole, carbamazepine, bisphenol A and 17 α -ethinylestradiol in sewage sludge: A literature review. *Journal of Hazardous Materials*. 2019, **368**(6), 739-745. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.01.063. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389419300743>

CHENG, Hsiao-Fen, Mathava KUMAR, Jih-Gaw LIN, Yi LI, Sun-Qin LU a Yun LU. Degradation kinetics of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and organic matter of sewage sludge during composting: A review. *Journal of Hazardous Materials*. Elsevier, 2008, 2019, **154**(1-3), 55-62. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.09.105. ISBN 9780128159071. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389407013970>

IKE, Michihiko, Min-Yu CHEN, Chang-Suk JIN a Masanori FUJITA. Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of biodegradation products of bisphenol-A. *Environmental Toxicology*. 2002, **17**(5), 457-461. DOI: 10.1002/tox.10079. ISSN 1520-4081. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/tox.10079>

IRANZO, María, Miguel GAMÓN, Rafael BOLUDA, Salvador MORMENEO, Sun-Qin LU a Yun LU. Analysis of pharmaceutical biodegradation of WWTP sludge using

composting and identification of certain microorganisms involved in the process: A review. *Science of The Total Environment*. Elsevier, 2018, 2019, **640-641**(1-3), 840-848. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.05.366. ISBN 9780128159071. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969718320175>

IVANOVÁ, Lucia, Tomáš MACKULAK, Roman GRABIC, et al. Pharmaceuticals and illicit drugs – A new threat to the application of sewage sludge in agriculture. *Science of The Total Environment*. 2018, **634**(7), 606-615. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.001. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969718311720>

JELIC, Aleksandra, Meritxell GROS, Antoni GINEBREDÀ, Raquel CESPEDÉS-SÁNCHEZ, Francesc VENTURA, Mira PETROVIC, Damia BARCELO a Thomas A. TERNES. Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water Research*. 2011, **45**(3), 1165-1176. DOI: 10.1016/j.watres.2010.11.010. ISSN 00431354. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135410007724>

JOBLING, Susan, Richard WILLIAMS, Andrew JOHNSON, et al. Predicted Exposures to Steroid Estrogens in U.K. Rivers Correlate with Widespread Sexual Disruption in Wild Fish Populations: A review. *Environmental Health Perspectives*. Elsevier, 2006, 2019, **114**(Suppl 1), 32-39. DOI: 10.1289/ehp.8050. ISBN 9780128159071. ISSN 0091-6765. Dostupné také z: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.8050>

JONES, Lisa, Fiona REGAN, Andrew JOHNSON, et al. Endocrine Disrupting Chemicals: A review. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier, 2018, 2018, **114**(Suppl 1), 32-39. DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.14512-3. ISBN 9780124095472. ISSN 0091-6765. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095472145123>

JØRGENSEN, Sven Erik a Bent HALLING-SØRENSEN. Drugs in the environment. *Chemosphere*. 2000, **40**(7), 691-699. DOI: 10.1016/S0045-6535(99)00438-5. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653599004385>

KACPRZAK, Małgorzata, Ewa NECZAJ, Krzysztof FIJAŁKOWSKI, et al. Sewage sludge disposal strategies for sustainable development. *Environmental Research*.

2017, **156**, 39-46. DOI: 10.1016/j.envres.2017.03.010. ISSN 00139351. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013935117304322>

KASPRZYK-HORDERN, Barbara, Richard M. DINSDALE, Alan J. GUWY, Martin REINHARD, Piotr STEPNOWSKI a Chang-Ping YU. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Research*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2008, **42**(13), 3498-3518. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.1016/j.watres.2008.04.026. ISBN 978-1-78262-189-8. ISSN 00431354. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135408001802>

KÄSTNER, Matthias a Anja MILTNER. Application of compost for effective bioremediation of organic contaminants and pollutants in soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016, **100**(8), 3433-3449. DOI: 10.1007/s00253-016-7378-y. ISSN 0175-7598. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-016-7378-y>

KELESSIDIS, Alexandros a Athanasios S. STASINAKIS. Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. *Waste Management*. 2012, **32**(6), 1186-1195. DOI: 10.1016/j.wasman.2012.01.012. ISSN 0956053X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X12000268>

KHADRA, Ahmed, Amine EZZARIAI, Georges MERLINA, et al. Fate of antibiotics present in a primary sludge of WWTP during their co-composting with palm wastes: A review. *Waste Management*. Elsevier, 2019, 2018, **84**(Suppl 1), 13-19. DOI: 10.1016/j.wasman.2018.11.009. ISBN 9780124095472. ISSN 0956053X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X1830672X>

KIM, Dokyung, Jin Il KWAK, Youn-Joo AN, M.M. BABÍN, C. FERNÁNDEZ, E. ALONSO a J.V. TARAZONA. Physiological response of crop plants to the endocrine-disrupting chemical nonylphenol in the soil environment: Ecotoxicological effects on representative soil organisms. *Environmental Pollution*. 2019, **251**(4), 573-580. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.04.101. ISSN 02697491. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749118352473>

- KIM, Joon-Woo, Hyo-Sang JANG, Jong-Gu KIM, et al. Occurrence of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) in Surface Water from Mankyung River, South Korea. *JOURNAL OF HEALTH SCIENCE*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2009, **55**(2), 249-258. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.1248/jhs.55.249. ISBN 978-1-78262-189-8. ISSN 1344-9702. Dostupné také z: <http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/jhs/55.249?from=CrossRef>
- KINCH, Cassandra D., Kingsley IBHAZEHEBO, Joo-Hyun JEONG, Hamid R. HABIBI, Deborah M. KURRASCH, Sylvie BARCELLINI, Marie-Christine CHAGNON a Roger RAHMANI. Low-dose exposure to bisphenol A and replacement bisphenol S induces precocious hypothalamic neurogenesis in embryonic zebrafish: A focus on their potential involvement in nonalcoholic fatty liver disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015, **112**(5), 1475-1480. DOI: 10.1073/pnas.1417731112. ISSN 0027-8424. Dostupné také z: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1417731112>
- KINNEY, Chad A., Edward T. FURLONG, Stephen L. WERNER, et al. PRESENCE AND DISTRIBUTION OF WASTEWATER-DERIVED PHARMACEUTICALS IN SOIL IRRIGATED WITH RECLAIMED WATER: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Elsevier, 2006, 2018, **25**(2), 05-187R. DOI: 10.1897/05-187R.1. ISBN 9780124095472. ISSN 0730-7268. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1897/05-187R.1>
- KŘESINOVÁ, Zdena, Lucie LINHARTOVÁ, Klára PETRŮ, et al. Method for analysis of psychopharmaceuticals in real industrial wastewater and groundwater with suspended organic particulate matter using solid phase extraction disks extraction and ultra-high performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry: A review. *Journal of Chromatography A*. Elsevier, 2016, 2018, **1440**(2), 15-22. DOI: 10.1016/j.chroma.2016.02.035. ISBN 9780124095472. ISSN 00219673. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967316301340>
- KUMIRSKA, Jolanta, Natalia MIGOWSKA, Magda CABAN, Paulina ŁUKASZEWICZ, Piotr STEPNOWSKI a Chang-Ping YU. Simultaneous determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs and oestrogenic hormones in environmental solid samples. *Science of The Total Environment*. Cambridge: Royal Society of Chemistry,

2015, **508**(2-3), 498-505. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.12.020. ISBN 978-1-78262-189-8. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969714017227>

KUSTER, Marina, Maria JOSÉ LÓPEZ DE ALDA, Damià BARCELÓ, et al. Analysis and distribution of estrogens and progestogens in sewage sludge, soils and sediments: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. Elsevier, 2004, 2018, **23**(10-11), 790-798. DOI: 10.1016/j.trac.2004.08.007. ISBN 9780124095472. ISSN 01659936. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993604030390>

Labtech: čistírna odpadních vod. Labtech [online]. 2017 [cit. 2019-12-13]. Dostupné z: <https://www.labtech.eu/cistirna-odpadnich-vod/>

LEE, Soo-Min, Bon-Wook KOO, Sung-Suk LEE, Myung-Kil KIM, Don-Ha CHOI, Eui-Ju HONG, Eui-Bae JEUNG a In-Gyu CHOI. Biodegradation of dibutylphthalate by white rot fungi and evaluation on its estrogenic activity. *Enzyme and Microbial Technology*. 2004, **35**(5), 417-423. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2004.06.001. ISSN 01410229. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141022904001590>

LEE, Yoohyun. Various Microorganisms' Roles in Composting: A Review. *APEC Youth Scientist Journal*. 2016, **8**(1), 11~15. ISSN 2005-5625.

LIAO, Chunyang, Fang LIU, Hyo-Bang MOON, Nobuyoshi YAMASHITA, Sehun YUN a Kurunthachalam KANNAN. *Bisphenol Analogues in Sediments from Industrialized Areas in the United States, Japan, and Korea: Spatial and Temporal Distributions*. 2012, **46**(21), 11558-11565. DOI: 10.1021/es303191g. ISSN 0013-936X. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es303191g>

MA, Chuang, Bin HU, Ming-Bao WEI, Ji-Hong ZHAO, Hong-Zhong ZHANG, Dana W. KOLPIN, Alfred M. DUFTY a Chad A. KINNEY. Influence of matured compost inoculation on sewage sludge composting: Enzyme activity, bacterial and fungal community succession. *Bioresource Technology*. 2019, **294**(24), 294-301. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122165. ISSN 09608524. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852419313951>

- MARTÍN, J., D. CAMACHO-MUÑOZ, J.L. SANTOS, et al. Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: Removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. *Journal of Hazardous Materials*. 2012, **239-240**(7), 40-47. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.04.068. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389412004712>
- MARTTINEN, Sanna K, Riitta H KETTUNEN, Kai M SORMUNEN, Jukka A RINTALA a E. ALONSO. Removal of bis(2-ethylhexyl) phthalate at a sewage treatment plant. *Water Research*. 2003, **37**(6), 1385-1393. DOI: 10.1016/S0043-1354(02)00486-4. ISSN 00431354. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135402004864>
- MC CARTHY, Gemma, Peadar G. LAWLOR, Lee COFFEY, et al. An assessment of pathogen removal during composting of the separated solid fraction of pig manure: A review. *Bioresource Technology*. Elsevier, 2011, 2018, **102**(19), 9059-9067. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.07.021. ISBN 9780124095472. ISSN 09608524. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852411009473>
- MCAVOY, Drew C., Bert SCHATOWITZ, Martin JACOB, et al. Measurement of triclosan in wastewater treatment systems: Environmental concentrations and toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2002, **21**(7), 1323-1329. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.1002/etc.5620210701. ISBN 978-1-78262-189-8. ISSN 07307268. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/etc.5620210701>
- Ministerstvo průmyslu a obchodu: Nařízení Komise 2016/26 ke změně přílohy XVII nařízení REACH. *MPO* [online]. 27.1.2016 [cit. 2019-11-06]. Dostupné z: <https://www.mpo.cz/cz/prumysl/chemicke-latky-a-smesi/reach-registrace-latek/narizeni-komise-eu-2016-26-ke-zmene-prilohy-xvii-narizeni-reach--168936/>
- Ministerstvo životního prostředí: Kaly z čistíren odpadních vod. *MŽP* [online]. 2019 [cit. 2019-11-10]. Dostupné z: https://www.mzp.cz/cz/kaly_cistiren_odpadnich_vod
- MONTES-GRAJALES, Diana, Mary FENNIX-AGUDELO a Wendy MIRANDA-CASTRO. Occurrence of personal care products as emerging chemicals of concern in water resources: A review. *Science of The Total Environment*. 2017, **595**, 601-614.

DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.286. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969717308161>

MULLER, Mathieu, Sarah COMBALBERT, Nadine DELGENÈS, et al. Occurrence of estrogens in sewage sludge and their fate during plant-scale anaerobic digestion. *Chemosphere*. 2010, **81**(1), 65-71. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2010.06.062. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653510007368>

NAMKOONG, Wan, Eui-Young HWANG, Joon-Seok PARK a Jung-Young CHOI. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting: effect of temperature and soil/green waste amendment ratio. *Environmental Pollution*. 2002, **119**(1), 23-31. DOI: 10.1016/S0269-7491(01)00328-1. ISSN 02697491. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749101003281>

NĚMEČEK, Jan, Ondřej LHOTSKÝ, Tomáš CAJTHAML a Petr BALDRIAN. Nanoscale zero-valent iron application for in situ reduction of hexavalent chromium and its effects on indigenous microorganism populations. *Science of The Total Environment*. 2014, **485-486**(2), 739-747. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.11.105. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969713014083>

NÚÑEZ, L., E. TURIEL, J.L. TADEO, Armin HAUKE, William S. ECKHOFF a Virginia CUNNINGHAM. Determination of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in environmental solid samples by ultrasonic-assisted extraction and high performance liquid chromatography-fluorescence detection: A case study in South Spain. *Journal of Chromatography A*. 2007, **1146**(2), 157-163. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.01.101. ISSN 00219673. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967307001823>

OLOFSSON, Ulrika, Anders BIGNERT, Peter HAGLUND, et al. Time-trends of metals and organic contaminants in sewage sludge: A review. *Water Research*. Elsevier, 2012, 2018, **46**(15), 4841-4851. DOI: 10.1016/j.watres.2012.05.048. ISBN 9780124095472. ISSN 00431354. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135412003867>

ORVOS, David R., Donald J. VERSTEEG, Josef INAUEN, Marie CAPDEVIELLE, Arthur ROTHENSTEIN a Virginia CUNNINGHAM. Aquatic toxicity of

triclosan. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2002, **21**(7), 1338-1349. DOI: 10.1002/etc.5620210703. ISSN 07307268. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/etc.5620210703>

ÖSTMAN, Marcus, Richard H. LINDBERG, Jerker FICK, Erik BJÖRN a Mats TYSKLIND. Screening of biocides, metals and antibiotics in Swedish sewage sludge and wastewater. *Water Research*. 2017, **115**, 318-328. DOI: 10.1016/j.watres.2017.03.011. ISSN 00431354. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135417301781>

PATUREAU, D., G. HERNANDEZ-RAQUET, P. BALAGUER, et al. Relevant approach to assess performances of wastewater biosolids composting in terms of micropollutants removal: A review. *Water Science and Technology*. Elsevier, 2008, 2018, **58**(1), 45-52. DOI: 10.2166/wst.2008.662. ISBN 9780124095472. ISSN 0273-1223. Dostupné také z: <https://iwaponline.com/wst/article/58/1/45/14704/Relevant-approach-to-assess-performances-of>

PEYRE, Ludovic, Patrick ROUIMI, Georges DE SOUSA, Cécile HÉLIÈS-TOUSSAINT, Benjamin CARRÉ, Sylvie BARCELLINI, Marie-Christine CHAGNON a Roger RAHMANI. Comparative study of bisphenol A and its analogue bisphenol S on human hepatic cells: A focus on their potential involvement in nonalcoholic fatty liver disease. *Food and Chemical Toxicology*. 2014, **70**(21), 9-18. DOI: 10.1016/j.fct.2014.04.011. ISSN 02786915. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691514001938>

PEYSSON, William, Emmanuelle VULLIET, Magda CABAN, Paulina ŁUKASZEWICZ, Piotr STEPNOWSKI a Chang-Ping YU. Determination of 136 pharmaceuticals and hormones in sewage sludge using quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction followed by analysis with liquid chromatography–time-of-flight-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2013, **1290**(2-3), 46-61. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.03.057. ISBN 978-1-78262-189-8. ISSN 00219673. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967313005244>

- POULSEN, Tjalfe G., Kai BESTER, P. BALAGUER, et al. Organic Micropollutant Degradation in Sewage Sludge during Composting under Thermophilic Conditions: A review. *Water Science and Technology*. Elsevier, 2010, 2018, **44**(13), 5086-5091. DOI: 10.1021/es9038243. ISBN 9780124095472. ISSN 0013-936X. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es9038243>
- Prováděcí rozhodnutí EK 2015/495: *kterým se stanoví seznam sledovaných látek pro monitorování v rámci celé Unie v oblasti vodní politiky podle směrnice Evropského parlamentu a Rady 2008/105/ES*. Brusel: Evropská komise, 2015, 2015/495.
- PubChem Database: Bisphenol-A. *Pubchem* [online]. 2019 [cit. 2019-11-12]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bisphenol-A>
- RACZ, LeeAnn, Ramesh K. GOEL, P. BALAGUER, et al. Fate and removal of estrogens in municipal wastewater: A review. *J. Environ. Monit.* Elsevier, 2010, 2018, **12**(1), 58-70. DOI: 10.1039/B917298J. ISBN 9780124095472. ISSN 1464-0325. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=B917298J>
- RAMASWAMY, Jayashree, Shiv O. PRASHER, Ramanbhai M. PATEL, et al. The effect of composting on the degradation of a veterinary pharmaceutical: A review. *Bioresource Technology*. Elsevier, 2010, 2018, **101**(7), 2294-2299. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.10.089. ISBN 9780124095472. ISSN 09608524. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852409014965>
- ROIG, Benoit a Vince D'ACO. Distribution of Pharmaceutical Residues in the Environment. *Pharmaceuticals in the Environment*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2015, 34-69. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.1039/9781782622345-00034. ISBN 978-1-78262-189-8. Dostupné také z: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781782622345-00034>
- ROUTLEDGE, E.J., Sumpter, J.P., 1996. Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 241–248
- SADEF, Yumna, Tjalfe Gorm POULSEN, Kai BESTER, et al. Impact of compost process conditions on organic micro pollutant degradation during full scale composting: A review. *Waste Management*. Elsevier, 2015, 2018, **40**(7), 31-37. DOI:

10.1016/j.wasman.2015.03.003. ISBN 9780124095472. ISSN 0956053X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X15001439>

SADEF, Yumna, Tjalfe Gorm POULSEN, Kai BESTER, et al. Modeling organic micro pollutant degradation kinetics during sewage sludge composting: A review. *Waste Management*. Elsevier, 2014, 2018, **34**(11), 2007-2013. DOI: 10.1016/j.wasman.2014.07.001. ISBN 9780124095472. ISSN 0956053X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X14002864>

SEMPLE, K.T, B.J REID a T.R FERMOR. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants: effect of temperature and soil/green waste amendment ratio. *Environmental Pollution*. 2001, **112**(2), 269-283. DOI: 10.1016/S0269-7491(00)00099-3. ISSN 02697491. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749100000993>

SHERBURNE, Jessica J., Amanda M. ANAYA, Kim J. FERNIE, Jennifer S. FORBEY, Edward T. FURLONG, Dana W. KOLPIN, Alfred M. DUFTY a Chad A. KINNEY. Occurrence of Triclocarban and Triclosan in an Agro-ecosystem Following Application of Biosolids. *Environment International*. 2016, **50**(24), 13206-13214. DOI: 10.1021/acs.est.6b01834. ISSN 0013-936X. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.6b01834>

SCHMIDT, Wiebke, Kathleen O'ROURKE, Robert HERNAN, et al. Effects of the pharmaceuticals gemfibrozil and diclofenac on the marine mussel (*Mytilus* spp.) and their comparison with standardized toxicity tests: Synthetic estrogens alter life-history and demographic structures of aquatic invertebrates. *Marine Pollution Bulletin*. 2011, **62**(7), 1389-1395. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2011.04.043. ISSN 0025326X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025326X11002463>

SCHULTZ, Melissa M., Edward T. FURLONG, Guodi ZHENG, Ji-Hong ZHAO, Hong-Zhong ZHANG, Dana W. KOLPIN, Alfred M. DUFTY a Chad A. KINNEY. Trace Analysis of Antidepressant Pharmaceuticals and Their Select Degradates in Aquatic Matrixes by LC/ESI/MS/MS: Enzyme activity, bacterial and fungal community succession. *Analytical Chemistry*. 2008, **80**(5), 1756-1762. DOI:

10.1021/ac702154e. ISSN 0003-2700. Dostupné také z:
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac702154e>

SCHWARZENBACH, R. P., Martin SCHERINGER, Matthew MACLEOD, Michael MATTHIES, Thomas MCKONE, Maximilian STROEBE, Andreas BEYER, Mark BONNELL, et al. The Challenge of Micropollutants in Aquatic Systems. *Science*. 2006, **313**(5790), 1072-1077. DOI: 10.1126/science.1127291. ISSN 0036-8075. Dostupné také z: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1127291>

Směrnice EP 2008/105/ES: *o normách environmentální kvality v oblasti vodní politiky, změně a následném zrušení směrnic Rady 82/176/EHS, 83/513/EHS, 84/156/EHS, 84/491/EHS a 86/280/EHS a změně směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES*. Štrasburg: Evropský parlament, 2008, 2008/105/ES.

Směrnice rady 86/278/EHS: o ochraně životního prostředí a zejména půdy při používání kalů z čistíren odpadních vod v zemědělství. Evropská komise, 1986, Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/CS/TXT/HTML/?uri=CELEX:31986L0278&from=EN>

SMITH, S, Joe LOPEZ-REAL a Angus J. BECK. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge: effect of temperature and soil/green waste amendment ratio. *Environment International*. 2009, **35**(1), 142-156. DOI: 10.1016/j.envint.2008.06.009. ISSN 01604120. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412008001153>

SOUZA, María Sol, Per HALLGREN, Esteban BALSEIRO, et al. Low concentrations, potential ecological consequences: Synthetic estrogens alter life-history and demographic structures of aquatic invertebrates. *Environmental Pollution*. 2013, **178**(2), 237-243. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.03.038. ISSN 02697491. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749113001711>

STAMM, C., K. RÄSÄNEN, F.J. BURDON, F. ALTERMATT, J. JOKELA, A. JOSS, M. ACKERMANN a R.I.L. EGGEN. Unravelling the Impacts of Micropollutants in Aquatic Ecosystems. *Large-Scale Ecology: Model Systems to Global Perspectives*. Elsevier, 2016, 2016, **313**(5790), 183-223. Advances in Ecological Research. DOI:

10.1016/bs.aecr.2016.07.002. ISBN 9780081009352. ISSN 0036-8075. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065250416300150>

STAPLES, Charles A., Dennis R. PETERSON, Thomas F. PARKERTON a William J. ADAMS. The environmental fate of phthalate esters: A literature review. *Chemosphere*. 1997, **35**(4), 667-749. DOI: 10.1016/S0045-6535(97)00195-1. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653597001951>

STAPLES, Charles A., Philip B. DOME, Gary M. KLECKA, Sondra T. OBLOCK a Lynne R. HARRIS. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A: a review. *Chemosphere*. 1998, **36**(10), 2149-2173. DOI: 10.1016/S0045-6535(97)10133-3. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653597101333>

SUBEDI, Bikram, Sunggyu LEE, Hyo-Bang MOON, Kurunthachalam KANNAN, Xiaoqing XIE a Chang-Ping YU. Emission of artificial sweeteners, select pharmaceuticals, and personal care products through sewage sludge from wastewater treatment plants in Korea. *Environment International*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2014, **68**(2-3), 33-40. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.1016/j.envint.2014.03.006. ISBN 978-1-78262-189-8. ISSN 01604120. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412014000762>

SUN, Qian, Mingyue LI, Cong MA, Xiangqiang CHEN, Xiaoqing XIE a Chang-Ping YU. Seasonal and spatial variations of PPCP occurrence, removal and mass loading in three wastewater treatment plants located in different urbanization areas in Xiamen, China. *Environmental Pollution*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2016, **208**(2-3), 371-381. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.1016/j.envpol.2015.10.003. ISBN 978-1-78262-189-8. ISSN 02697491. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749115301068>

SUN, Qian, Mingyue LI, Cong MA, Xiangqiang CHEN, Xiaoqing XIE a Chang-Ping YU. Seasonal and spatial variations of PPCP occurrence, removal and mass loading in three wastewater treatment plants located in different urbanization areas in Xiamen, China. *Environmental Pollution*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2016, **208**(2-3), 371-381. Issues in Environmental Science and Technology. DOI:

10.1016/j.envpol.2015.10.003. ISBN 978-1-78262-189-8. ISSN 02697491.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749115301068>

SUN, Xiaoli, Junyu PENG, Muhua WANG, et al. Determination of nine bisphenols in sewage and sludge using dummy molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry: A focus on their potential involvement in nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Chromatography A*. 2018, **1552**(5), 10-16. DOI: 10.1016/j.chroma.2018.04.004. ISSN 00219673. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967318304035>

ŠNAJDR, Jaroslav, Vendula VALÁŠKOVÁ, Věra MERHAUTOVÁ, Tomáš CAJTHAML a Petr BALDRIAN. Activity and spatial distribution of lignocellulose-degrading enzymes during forest soil colonization by saprotrophic basidiomycetes. *Enzyme and Microbial Technology*. 2008, **43**(2), 186-192. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2007.11.008. ISSN 01410229. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141022907003559>

ŠTURSA, VÁCLAV. *POROVNÁNÍ EXTRAČNÍCH METOD PRO PRVKOVOU ANALÝZU ZEMĚDĚLSKÝCH PŮD*. Brno, 2012. Bakalářská práce. VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ. Vedoucí práce Ing. PAVEL DIVIŠ, Ph.D.

TERNES, Thomas A., Henrik ANDERSEN, Daniel GILBERG, Matthias BONERZ, J. JOKELA, A. JOSS, M. ACKERMANN a R.I.L. EGGEN. Determination of Estrogens in Sludge and Sediments by Liquid Extraction and GC/MS/MS. *Analytical Chemistry*. Elsevier, 2002, 2016, **74**(14), 3498-3504. Advances in Ecological Research. DOI: 10.1021/ac015717z. ISBN 9780081009352. ISSN 0003-2700. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac015717z>

TYLER, C. R., S. JOBLING a J. P. SUMPTER. Endocrine Disruption in Wildlife: A Critical Review of the Evidence. *Critical Reviews in Toxicology* [online]. 2008, **28**(4), 319-361 [cit. 2019-10-07]. DOI: 10.1080/10408449891344236. ISSN 1040-8444. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408449891344236>

United Nations Environment Programme: Stockholm Convention on persistent organic pollutions (POPs). *Pops* [online]. 2001 [cit. 2019-12-13]. Dostupné z:

<http://www.pops.int/TheConvention/Overview/TextoftheConvention/tabid/2232/Default.aspx>

URRA, Julen, Itziar ALKORTA, Iker MIJANGOS, et al. Application of sewage sludge to agricultural soil increases the abundance of antibiotic resistance genes without altering the composition of prokaryotic communities. *Science of The Total Environment*. Elsevier, 2019, 2016, **647**(1), 1410-1420. Advances in Ecological Research. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.092. ISBN 9780081009352. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969718329772>

VAJDA, Alan M., Larry B. BARBER, James L. GRAY, Elena M. LOPEZ, John D. WOODLING, David O. NORRIS, M. ACKERMANN a R.I.L. EGGEN. Reproductive Disruption in Fish Downstream from an Estrogenic Wastewater Effluent. *Analytical Chemistry*. Elsevier, 2008, 2016, **42**(9), 3407-3414. Advances in Ecological Research. DOI: 10.1021/es0720661. ISBN 9780081009352. ISSN 0013-936X. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es0720661>

VERLICCHI, P., E. ZAMBELLO, Roman GRABIC, et al. Pharmaceuticals and personal care products in untreated and treated sewage sludge: Occurrence and environmental risk in the case of application on soil — A critical review. *Science of The Total Environment*. 2015, **538**(7), 750-767. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.08.108. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969715306100>

VOULVOULIS, Nick, Damia BARCELÓ a Paola VERLICCHI. Pharmaceutical Residues in Sewage Treatment Works and their Fate in the Receiving Environment. *Pharmaceuticals in the Environment*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2015, , 120-179. Issues in Environmental Science and Technology. DOI: 10.1039/9781782622345-00120. ISBN 978-1-78262-189-8. Dostupné také z: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781782622345-00120>

Vyhláška č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu. ČR: Ministerstvo životního prostředí, 2005.

Vyhláška č. 341/2008 Sb., o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady. ČR: Ministerstvo životního prostředí, 2008.

Vyhláška č. 437/2016 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě.
ČR: Ministerstvo životního prostředí, 2016.

WANG, Xiankai, Tongbin CHEN, Guodi ZHENG, Ji-Hong ZHAO, Hong-Zhong ZHANG, Dana W. KOLPIN, Alfred M. DUFTY a Chad A. KINNEY. Preservation of nitrogen and sulfur and passivation of heavy metals during sewage sludge composting with KH_2PO_4 and FeSO_4 : Enzyme activity, bacterial and fungal community succession. *Bioresource Technology*. 2019, **294**(24), 294-301. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122383. ISSN 09608524. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096085241931613X>

WOODLING, John D., Elena M. LOPEZ, Tammy A. MALDONADO, David O. NORRIS, Alan M. VAJDA, David O. NORRIS, M. ACKERMANN a R.I.L. EGGEN. Intersex and other reproductive disruption of fish in wastewater effluent dominated Colorado streams. *Analytical Chemistry*. Elsevier, 2006, 2016, **144**(1), 10-15. Advances in Ecological Research. DOI: 10.1016/j.cbpc.2006.04.019. ISBN 9780081009352. ISSN 15320456. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1532045606001682>

WU, Jun, Hua ZHANG, Qi-Sheng YAO, Li-Ming SHAO, Pin-Jing HE, Dana W. KOLPIN, Alfred M. DUFTY a Chad A. KINNEY. Toward understanding the role of individual fluorescent components in DOM-metal binding: Heavy metal leaching characteristics. *Journal of Hazardous Materials*. 2012, **215-216**(24), 294-301. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.02.075. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389412002695>

YAN, Qing, Xu GAO, You-Peng CHEN, et al. Occurrence, fate and ecotoxicological assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants in Chongqing, the Three Gorges Reservoir Area: Removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. *Science of The Total Environment*. 2014, **470-471**(2), 618-630. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.09.032. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004896971301070X>

YU, Xiaohua, Jingchuan XUE, Hong YAO, Qian WU, Arjun K. VENKATESAN, Rolf U. HALDEN a Kurunthachalam KANNAN. Occurrence and estrogenic potency of eight

bisphenol analogs in sewage sludge from the U.S. EPA targeted national sewage sludge survey. *Journal of Hazardous Materials*. 2015, **299**, 733-739. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.07.012. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389415005415>

ZHANG, Jun, Yu BAO, Yu JIANG, Hong-Tao LIU, Bei-Dou XI, Dun-Qiu WANG, M. ACKERMANN a R.I.L. EGGEN. Removal and dissipation pathway of typical fluoroquinolones in sewage sludge during aerobic composting. *Waste Management*. Elsevier, 2019, 2016, **95**(1), 450-457. Advances in Ecological Research. DOI: 10.1016/j.wasman.2019.06.036. ISBN 9780081009352. ISSN 0956053X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X19304258>

ZHANG, Min, Liang-Ying HE, You-Sheng LIU, et al. Fate of veterinary antibiotics during animal manure composting. *Science of The Total Environment*. Elsevier, 2019, 2016, **650**(1), 1363-1370. Advances in Ecological Research. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.09.147. ISBN 9780081009352. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969718335915>

ZHENG, Guodi, Bao YU, Yuewei WANG, Chuang MA a Tongbin CHEN. Removal of triclosan during wastewater treatment process and sewage sludge composting—A case study in the middle reaches of the Yellow River. *Environment International*. 2020, **134**. DOI: 10.1016/j.envint.2019.105300. ISSN 01604120. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016041201932728X>

ZHENG, Guodi, Tieyu WANG, Mingjie NIU, et al. Biodegradation of nonylphenol during aerobic composting of sewage sludge under two intermittent aeration treatments in a full-scale plant. *Environmental Pollution*. Elsevier, 2018, 2016, **238**(1), 783-791. Advances in Ecological Research. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.03.112. ISBN 9780081009352. ISSN 02697491. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749117349722>

ZHU, Qingqing, Jiabao JIA, Yun WANG, Kegang ZHANG, He ZHANG, Chunyang LIAO a Guibin JIANG. Spatial distribution of parabens, triclocarban, triclosan, bisphenols, and tetrabromobisphenol A and its alternatives in municipal sewage sludges in China: A literature review. *Science of The Total Environment*. 2019, **679**(6), 61-69.

DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.05.059. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969719320716>

ZHU, Saichang, Hong CHEN, J.L. SANTOS, et al. The fate and risk of selected pharmaceutical and personal care products in wastewater treatment plants and a pilot-scale multistage constructed wetland system: Removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. *Environmental Science and Pollution Research*. 2014, **21**(2), 1466-1479. DOI: 10.1007/s11356-013-2025-y. ISSN 0944-1344. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-013-2025-y>

ZIYLAN, Asu, Nilsun H. INCE a D CAMINADA. The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: Treatability by conventional and non-conventional processes. *Journal of Hazardous Materials*. 2011, **187**(1-3), 24-36. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.01.057. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389411000793>